

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL DAUN UBI JALAR UNGU
(*Ipomoea batatas L.Lam*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS
(*Rattus norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE YANG DIINDUKSI
INDOMETASIN**

SKRIPSI

Oleh :
HANUN SABILAH
145130101111010



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH EKSTRAK ETHANOL DAUN UBI JALAR UNGU
(*Ipomoea batatas L.Lam*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN
GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS
(*Rattus norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY
BOWEL DISEASE YANG DIINDUKSI
INDOMETASIN**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

SKRIPSI

Oleh :
HANUN SABILAH
145130101111010



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

PENGARUH EKSTRAK ETHANOL DAUN UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.Lam*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE YANG DIINDUKSI INDOMETASIN

Oleh:
HANUN SABILAH
145130101111010

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 26 Juli 2018
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Ir. Hendrawan S., M.Rur.Sc, Ph.D
NIP. 19530602 198003 1 003

drh. Dyah Ayu Oktavanie A.P., M.Biotech
NIP. 19841026 200812 2 004

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES
NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : HANUN SABILAH

NIM : 145130101111010

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul:

Pengaruh Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease yang Diinduksi Indometasin

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala risiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 26 Juli 2018

Yang menyatakan,

(Hanun Sabilah)

NIM. 145130101111010

PENGARUH EKSTRAK ETHANOL DAUN UBI JALAR UNGU (*Ipomoea batatas L.Lam*) TERHADAP EKSPRESI TNF- α DAN GAMBARAN HISTOPATOLOGI LAMBUNG TIKUS (*Rattus norvegicus*) MODEL INFLAMMATORY BOWEL DISEASE YANG DIINDUKSI INDOMETASIN

ABSTRAK

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit peradangan pada organ saluran pencernaan termasuk lambung. Salah satu faktor penyebab IBD disebabkan oleh induksi obat-obatan NSAID seperti indometasin. Hal ini disebabkan mekanisme kerja indometasin menghambat kinerja enzim COX (siklooksigenase) yang mengakibatkan kenaikan ROS pada jaringan lambung dan menimbulkan produksi sitokin proinflamatori seperti TNF- α . Daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) kaya akan kandungan flavonoid dan antosianin yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Kandungan tersebut berpotensi dalam menekan ekspresi TNF- α serta memperbaiki kerusakan jaringan organ lambung akibat penyakit IBD. Penelitian ini dilakukan dengan memberikan terapi ekstrak etanol daun ubi jalar ungu (dosis: 600 mg/kgBB, 700 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB) pada tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi dengan indometasin (dosis: 15 mg/kgBB). Parameter yang diamati pada penelitian ini berupa ekspresi TNF- α menggunakan metode imunohistokimia dan histopatologi organ lambung yang diwarnai dengan pewarna HE (*Hematoxyline-eosin*). Sedangkan analisa data hasil penelitian dilakukan menggunakan metode ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) α -0,05. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD induksi indometasin, dengan dosis 600 mg/kgBB, 700 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB dapat mengurangi ekspresi TNF- α , perbaikan gambaran histopatologi lambung serta penurunan infiltrasi sel radang. Dosis terapi terbaik pada penelitian ini adalah pada dosis 800 mg/kgBB. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu dapat dijadikan terapi untuk IBD.

Kata Kunci : IBD, indometasin, *Ipomoea batatas L.Lam*, TNF- α dan histopatologi lambung.

THE EFFECT OF PURPLE SWEET POTATO LEAVES (*Ipomoea batatas* L.Lam) ETHANOL EXTRACT ON TNF- α EXPRESSION AND GASTRIC HISTOPATHOLOGY OF INFLAMMATORY BOWEL DISEASE IN RAT (*Rattus norvegicus*) INDUCED BY INDOMETHACIN

ABSTRACT

Inflammatory Bowel Disease (IBD) is one of the gastrointestinal tract disorders including the stomach. One of the factors causing IBD is the induction of NSAID such as indomethacin. This is due to the indomethacin action that inhibiting COX enzymes (cyclooxygenase). That resulting in the increase of ROS level in tissues and initiate production and increase expression of proinflammatory cytokines such as TNF- α . This, resulting in neutrophil aggregation and mucosal damage to gastric organs. Purple sweet potato leaves (*Ipomoea batatas* L.Lam) are rich in flavonoids and anthocyanins that act as antioxidants and anti-inflammatories. It has potential to suppress TNF- α expression as well as repair damaged gastric tissue resulting from IBD. This study was performed by giving ethanol extract of purple sweet potato leaves (doses: 600mg/kgBB, 700mg/kgBW, and 800mg/kgBW) to Inflammatory bowel disease rats (*Rattus norvegicus*) induced by indomethacin (15mg/kg BW). The parameters observed in this study are TNF- α expression using immunohistochemical method and histopathology of stomach organ stained with HE (Hematoxyline-eosin). Data analysis of this research were conducted using ANOVA (Analysis of Variance) and continued with HSD test (Honestly Significant Difference) α -0,05. The data results showed that ethanol extract of purple sweet potato leaves in white rat (*Rattus norvegicus*) IBD indometacin induction model, with dose of 600 mg / kg BW , 700 mg / kg BW and 800 mg / kg BW could decrease expression of TNF- α and stomach histopathology improvement and decrease infiltration of inflammatory cells. However, the best therapeutic dose in this study was 800 mg / kgBW. The conclusion is ethanol extract of purple sweet potato leaves can be used as therapy for IBD.

Key Word: IBD, indomethacin, *Ipomoea batatas* L.Lam, TNF- α and gastric histopathology.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah memberikan segala nikmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Pengaruh Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.Lam) terhadap Ekspresi TNF- α dan Gambaran Histopatologi Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model Inflammatory Bowel Disease yang Diinduksi Indometasin”.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini, yaitu:

1. Prof. Ir. Hendrawan S., M.Rur.Sc, Ph.D selaku Dosen Pembimbing I serta drh. Dyah Ayu Oktavanie A.P., M.Biotech selaku Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan serta arahan dalam penyusunan penelitian skripsi
2. Ibu Dhita Evi Aryani, S. Farm, Apt. serta drh. Galuh Chandra Agustina, M. Si. selaku Dosen Penguji yang akan memberikan kritik dan saran serta arahan dalam penyusunan penelitian skripsi
3. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES selaku Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Brawijaya
4. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan dan doa untuk penulis
5. Teman-temanku AMAZE 2014-A atas kekompakan, kebersamaan yang takkan terlupakan, dan dukungan selama empat tahun ini, dan teman-teman mahasiswa Fakultas Kedokteran Hewan
6. Rekan seperjuangan dalam pelaksanaan penelitian kelompok *Ipomoea batatas*
7. Dan semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penulisan karya tulis ini yang tidak mungkin disebutkan satu persatu.

Penulis berharap penelitian skripsi ini dapat diterima sehingga dapat memberikan pengalaman serta wawasan baru terhadap penulis. Penulis menyadari

bahwa penelitian skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh karena itu penulis memohon maaf atas kekurangan tersebut.

Malang, 27 Juli 2018

(Hanun Sabilah)

NIM. 145130101111010



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRCT	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR SINGKATAN DAN LAMBANG	xiii
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah Penelitian.....	4
1.4 Tujuan Penelitian	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	5
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 6
2.1 Ubi Jalar Ungu	6
2.1.1 Morfologi Daun Ubi Jalar Ungu	7
2.1.2 Kandungan Fitokimia Daun Ubi Jalar Ungu	8
2.2 <i>Rattus novergicus</i>	10
2.2.1 Anatomi Lambung <i>Rattus novergicus</i>	11
2.2.2 Histologi Lambung <i>Rattus novergicus</i>	13
2.3 Inflammatory Bowel Disease.....	15
2.3.1 Pengertian	15
2.3.2 Patofisiologi	16
2.3.3 Manifestasi Klinis	17
2.3.4 Manifestasi Patologis	18
2.4 Indometasin.....	20
 BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN.....	 24
3.1 Kerangka Konsep.....	24
3.2 Hipotesis Penelitian	27
 BAB IV METODE PENELITIAN	 28
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	28
4.2 Sampel Penelitian.....	28
4.3 Rancangan Penelitian	29
4.4 Variabel Penelitian	30
4.5 Materi Penelitian	30

4.6 Tahapan Penelitian	31
4.6.1 Persiapan Hewan Coba	31
4.6.2 Induksi IBD dengan Indometasin	32
4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Ubi jalar Ungu	32
4.6.4 Terapi Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu	33
4.6.5 Isolasi Organ Lambung	33
4.6.6 Pembuatan Preparat Organ	34
4.6.6.1 Fiksasi	34
4.6.6.2 Dehidrasi	34
4.6.6.3 <i>Clearing</i>	35
4.6.6.4 Infiltrasi Parafin	35
4.6.6.5 <i>Embedding</i>	35
4.6.6.6 <i>Sectioning</i>	36
4.6.6.7 Pewarnaan	36
4.6.6.8 Pembuatan Preparat Imunohistokimia	37
4.8 Analisa Data	39
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	40
5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas L.Lam</i>) terhadap Ekspresi TNF- α Organ Lambung Tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) Model IBD yang Diinduksi dengan Indometasin	40
5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (<i>Ipomoea batatas L.Lam</i>) terhadap Perubahan Histopatologi Organ Lambung Tikus (<i>Rattus norvegicus strain wistar</i>) Model IBD yang Diinduksi dengan Indometasin	45
BAB VI PENUTUP	52
6.1 Kesimpulan	52
6.2 Saran	52
DAFTAR PUSTAKA	53

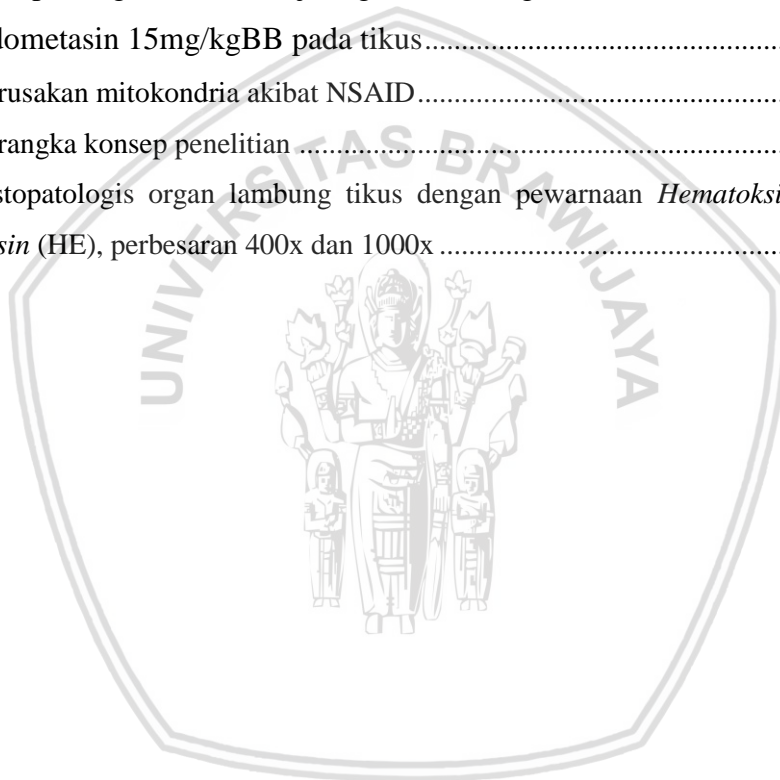
DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Identifikasi senyawa antosianin daun ubi jalar ungu	9
4.1 Rancangan kelompok penelitian.....	30
5.1 Rata-rata ekspresi tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) organ lambung tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	41
5.2 Rata-rata infiltrasi sel radang lambung tikus (<i>Rattus norvegicus</i>).....	49



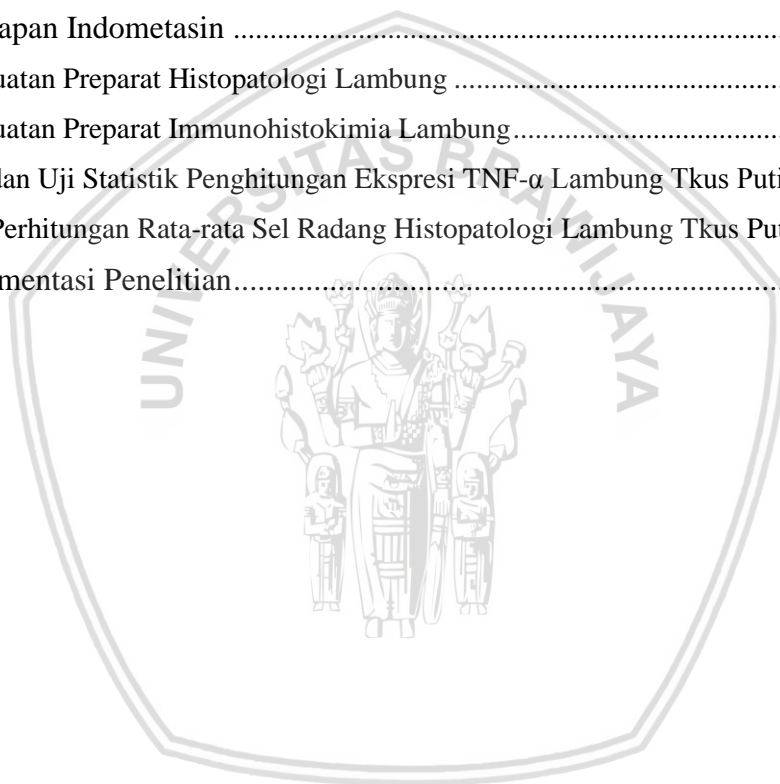
DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Daun ubi jalar ungu	7
2.3 <i>Rattus norvegicus</i>	11
2.4 Anatomi lambung <i>Rattus norvegicus</i>	13
2.5 Ilustrasi lapisan histologi mukosa lambung.....	13
2.6 Histologi lambung	15
2.7 Histopatologi inflamasi jaringan lambung akibat administrasi indometasin 15mg/kgBB pada tikus.....	20
2.8 Kerusakan mitokondria akibat NSAID.....	22
3.1 Kerangka konsep penelitian	24
5.1 Histopatologis organ lambung tikus dengan pewarnaan <i>Hematoksilin</i> <i>Eosin</i> (HE), perbesaran 400x dan 1000x	46



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Laik Etik	60
2. Skema Penelitian	61
3. Pembuatan Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu	62
4. Perhitungan Dosis Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu	63
5. Penyiapan Indometasin	66
6. Pembuatan Preparat Histopatologi Lambung	67
7. Pembuatan Preparat Immunohistokimia Lambung.....	68
8 Data dan Uji Statistik Penghitungan Ekspresi TNF- α Lambung Tkus Putih.....	69
9 Data Perhitungan Rata-rata Sel Radang Histopatologi Lambung Tkus Putih	75
10 Dokumentasi Penelitian.....	78



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

%	: Persen
APC	: <i>Antigen Presenting Cell</i>
ANOVA	: <i>Analysis of variance</i>
BALITKABI	: Balai Penelitian Aneka Kacang dan Umbi
BNJ	: Beda Nyata Jujur
BSA	: <i>Bovine Serum Albumin</i>
$^{\circ}\text{C}$: derajat celsius
CARD	: <i>capsase activating recruitment domain</i>
CD	: <i>Crohn Disease</i>
COX	: cyclooxygenase
cm	: sentimeter
CV	: <i>Coefficient of variation</i>
DAB	: <i>Diamino Benzidine</i>
ETC	: <i>Electron Transfer Chain</i>
g	: gram
H ₂ O	: dihydrogen oxide (air)
HE	: <i>Hematoxyline Eosin</i>
HLA	: <i>Human leukocyte antigens</i>
IBD	: <i>Inflammatory Bowel Disease</i>
IC ₅₀	: <i>Half Maximal Inhibitory Concentration</i>
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
KCl	: Kalium chloride
KH ₂ PO ₄	: Kaliumdihydrogen phosphat
Kg	: Kilogram
M	: Molar
mg	: miligram
ml	: mililiter
μg	: mikrogram
μl	: mikroliter
Na ₂ CO ₃	: Sodium karbonat
NOD	: Nodulation

NSAID	: <i>Nonsteroidal anti-inflammatory drugs</i>
PG	: Prostaglandin
TXA ₂ /A ₂	: Thromboxane
PO	: Per Oral
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SEM	: <i>Standart Error of Mean</i>
Th	: Sel T helper
TNF- α	: <i>Tumor Necrotic Factor Alpha</i>
UK	: Ulseratif Kolidis



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Penelitian

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit inflamasi yang terjadi pada saluran pencernaan yang menyerang pada multispecies. Secara umum, penyakit IBD terbagi atas dua tipe, yaitu *Crohn Disease* (CD) dan Ulseratif Kolitis (UK). Kasus IBD tipe *Crohn Disease* menyerang pada semua bagian saluran pencernaan. Sedangkan tipe ulseratif kolitis hanya menyerang kolon (Krisner *et al*, 2004). Menurut penelitian Wiinberg *et al.*(2005), prevalensi kejadian IBD pada anjing di Jerman yaitu 36% terlihat dari kasus muntah dan 26-48% secara asimtomatik. Selain itu, terdapat 136 kasus *Inflammatory Bowel Disease* yang dilaporkan pada klinik hewan *Clinic for Small Animals, Faculty of Veterinary Medicine, Freie Universität Berlin*, Berlin, Jerman, sepanjang tahun 2017 berdasarkan penelitian Volkmann (2017). Sedangkan kejadian IBD pada hewan di Indonesia belum terdapat pelaporan secara tertulis. Menurut Firmansyah (2013), insidens IBD pada manusia di Indonesia adalah 10 kasus per 100.000 penduduk. Patomekanisme pada penyakit ini terjadi akibat dari peradangan yang dipicu oleh peningkatan ekspresi sitokin proinflamatori seperti IFN- γ dan TNF- α , yang menyebabkan kerusakan jaringan seperti inflamasi serta ulserasi pada mukosa saluran pencernaan khususnya organ lambung (Yamada, 2005). Kerusakan jaringan tersebut menimbulkan manifestasi klinis berupa diare, melena dan kerusakan pada organ pencernaan khususnya pada organ lambung (Thoreson *et al*, 2007). Indometasin merupakan salah satu obat

antiinflamasi non steroid (NSAID) yang dapat menginduksi IBD. Obat ini bekerja dengan menghambat kinerja enzim COX (siklooksigenase) dengan cara berikatan dengan bagian atas situs aktif dari enzim COX (Hatazawa *et al*, 2006). Hal ini menyebabkan asam arakidonat tidak mampu diubah menjadi prostanoid yang bekerja dalam pengaturan produksi mukus dan tingkat keasaman lambung. Oleh karena itu, terjadi penurunan produksi mukus lambung yang berakibat pada penurunan barier proteksi lambung, serta peningkatan produksi asam lambung yang menyebabkan iritasi dan kerusakan pada mukosa lambung (Vane dan Jack, 2012). Selain itu, kandungan indometasin yang terdiri dari 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid yang memiliki sifat asam. Hal ini dapat secara langsung menyebabkan iritasi pada mukosa lambung, sehingga memperparah adanya kerusakan pada mukosa organ lambung (kar, 2005).

Ekstrak daun ubi jalar ungu memiliki kandungan fitokimia berupa flavonoid dan antosianin yang bersifat antioksidan dan antiinflamasi (Islam, 2006). Hal ini berpotensi dalam menangani inflamasi yang disebabkan oleh penyakit IBD. Aktivitas antioksidan flavonoid dalam tubuh adalah dengan cara menghambat reaksi oksidasi, sehingga mampu menurunkan kadar ROS dalam jaringan (Bahattacharyya *et al*, 2014). Sedangkan, aktivitas antioksidan antosianin dalam tubuh yaitu secara langsung berperan sebagai *scavenging* ROS seperti superoksida (O_2^-), singlet oksigen (1O_2), peroksida(ROO^\cdot), Hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksilradikal (OH). Penurunan kadar ROS oleh flavonoid dan antosianin dapat menurunkan aktivasi NF- κ B dan inisiasi sitokin proinflamatori, sehingga terjadi

penurunan ekspresi TNF α . Dengan demikian, hal tersebut dapat menangani inflamasi dan kerusakan pada jaringan (Fassihi dan Sabet, 2008).

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dilakukan pembuatan ekstrak etanol daun ubi jalar ungu sebagai agen terapi penyakit IBD. Penelitian ini dilakukan menggunakan tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi dengan indometasin. Penelitian ini bertujuan untuk melihat efek ekstrak etanol daun ubi jalar ungu terhadap penurunan ekspresi TNF- α dan perbaikan jaringan organ lambung tikus. Dengan dilakukannya penelitian ini, diharapkan mampu menambah wawasan mengenai efektifitas ekstrak etanol daun ubi jalar ungu dan perkembangan obat herbal dalam penanganan penyakit IBD.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, didapatkan rumusan masalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap ekspresi TNF- α pada organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin.
2. Bagaimana pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap perubahan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin.

1.3 Batasan Masalah Penelitian

Berdasarkan uraian rumusan masalah di atas, maka didapatkan batasan masalah penelitian sebagai berikut:

1. Hewan coba yang digunakan yaitu tikus putih spesies *Rattus norvegicus* strain wistar jantan yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta dengan umur 8-12 minggu dan berat rata-rata 160 gram. Penggunaan hewan coba telah mendapat persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Universitas Brawijaya dengan sertifikat laik etik No: 859-KEP-UB (**Lampiran 1**).
2. Pembuatan tikus (*Rattus norvegicus*) model *inflammatory Bowel Disease* dilakukan dengan pemberian induksi indometasin dosis tunggal secara per oral dengan dosis 15mg/kg BB, kemudian diinkubasi selama 24 jam (Aulanni'am *et al*, 2011).
3. Daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) didapatkan dari Balai Penelitian Aneka Kacang dan Umbi (BALITKABI) Malang.
4. Ekstrak daun ubi jalar ungu dibuat di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, serta pemberian dosis terapi 600 mg/Kg BB, 700 mg/Kg BB dan 800 mg/Kg BB yang diberikan selama 14 hari.
5. Variabel yang diamati pada penelitian ini berupa penurunan ekspresi TNF- α yang diamati dengan teknik imunohistokimia, serta gambaran histopatologi organ lambung yang meliputi kerusakan mukosa dan infiltrasi sel radang yang diamati dengan pewarnaan HE.

1.4 Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, dapat diketahui tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap ekspresi TNF- α pada organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin.
2. Untuk mengetahui pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap perubahan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin.

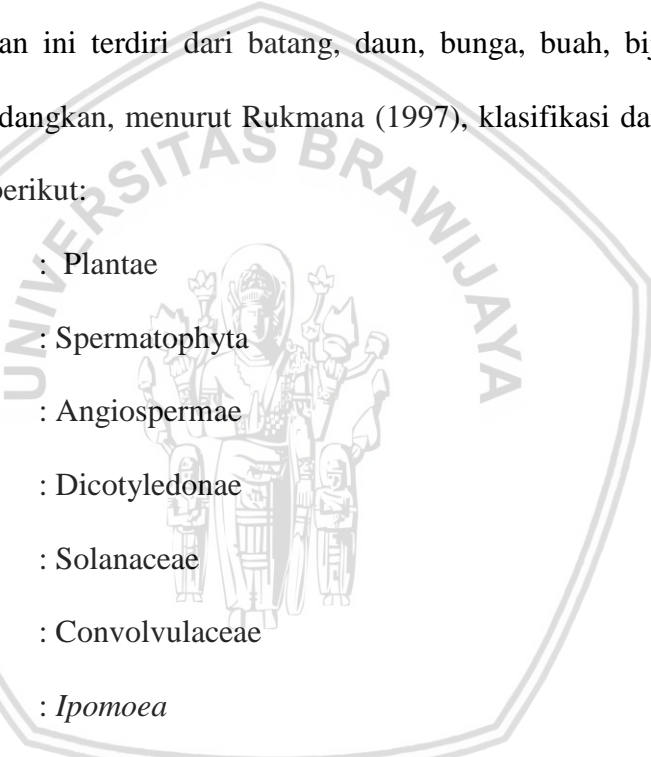
1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian ini memberikan informasi mengenai pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap terapi penyakit *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) dengan parameter ekspresi TNF- α dan histopatologi pada organ lambung. Oleh karena itu, diharapkan dengan adanya penelitian ini dapat bermanfaat dalam perkembangan obat herbal sebagai terapi IBD.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Ubi Jalar Ungu

Ubi jalar ungu merupakan suatu varietas umbi jalar yang tumbuh subur di Indonesia. Ubi jalar ungu termasuk kedalam tumbuhan *annual* (semusim), yang mana hanya dapat dilakukan satu kali panen dalam satu kali penanaman. Dari segi morfologi, tumbuhan ini terdiri dari batang, daun, bunga, buah, biji dan umbi (Human, 1992). Sedangkan, menurut Rukmana (1997), klasifikasi dari tumbuhan ini adalah sebagai berikut:



Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Solanaceae
Famili	: Convolvulaceae
Genus	: <i>Ipomoea</i>
Spesies	: <i>Ipomoea batatas</i> [L.] Lam

Batang tanaman ini berbentuk bulat, tidak berkayu dan berbuku-buku. Sehingga dapat memungkinkan untuk tumbuhan ini tumbuh merambat. Daun dari tumbuhan ini melekat pada buku-buku batang serta bertangkai. Setiap tangkai pada buku-buku batang memiliki satu daun. Sedangkan bunga pada tanaman ini

berbentuk terompet serta umbinya berbentuk lonjong dan berwarna ungu (Warhamni *et al.* 2013).

2.1.1 Morfologi Daun Ubi Jalar Ungu

Daun ubi jalar ungu termasuk pada kategori daun tunggal. Hal ini karena hanya terdapat satu daun pada satu tangkai. Bentuk dari daun ini yaitu menjari. Jumlah jari pada daun biasanya terdapat 3 penjururan. Sedangkan diameter daun ini terbilang lebar, dengan tepian daun yang halus (B.S Antia *et al.*, 2006). Selain itu, pada persimpangan antara batang dan tangkai daun terdapat serabut akar. Serabut tersebut biasa digunakan dalam budidaya dengan cara stek (Rukmana, 1997).

Warna daun ubi jalar ungu terdapat dua jenis, yaitu warna ungu dan hijau. Keadaan warna daun tersebut berkaitan dengan banyaknya kandungan kimia dalam daun. Menurut (Supadmi, 2009), daun ubi jalar ungu yang berwarna ungu memiliki kandungan fitokimia yang lebih banyak daripada yang berwarna hijau. Gambaran daun ubi jalar ungu secara umum dapat dilihat pada (**Gambar 2.1.**).



Gambar 2.1. Daun ubi jalar ungu (B.S Antia *et al.*, 2006).

2.1.2 Kandungan Fitokimia Daun Ubi Jalar Ungu

Tumbuhan memiliki mekanisme sistem imun dengan memproduksi metabolit sekunder, begitu pula pada daun ubi jalar ungu. Kandungan metabolit sekunder utama pada daun ubi jalar ungu adalah polifenol seperti flavonoid dan antosianin yang berperan sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Islam, 2006). Menurut Chang *et al* (2010), kandungan polifenol dan flavonoid pada daun ubi jalar ungu adalah berturut-turut 33.4 ± 0.5 mg/g berat kering dan 426.8 ± 8.9 μ g/g berat kering. Sedangkan kandungan antosianin pada daun ubi jalar ungu menurut Islam *et al* (2002) adalah 11,78 CV/g berat kering. Selain itu, kandungan fitokimia pada daun ubi jalar ungu memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi, yaitu dengan nilai IC_{50} 400 - 600 μ g/ml (Hue *et al*, 2012).

Daun ubi jalar ungu berwarna ungu kehitaman. Warna tersebut disebabkan kandungan zat antosianin yang memberikan pigmentasi ungu kehitaman (Islam, 2006). Menurut Kristanti *et al* (2008), senyawa antosianin ini sengaja diproduksi oleh jaringan tumbuhan sebagai respon dari luka, infeksi dan pertahanan diri dari serangan hama. Kandungan antosianin daun ubi jalar ungu memiliki konsentrasi tertinggi dibandingkan jenis ubi lainnya, sehingga memberikan efek pigmentasi warna ungu pada daun ubi jalar ungu (Fan *et al*, 2007). Selain itu, antosianin juga bermanfaat sebagai antiseptik, antiinflamasi dan antioksidan dengan cara mereduksi ROS dalam jaringan (Chen *et al*, 2012). Menurut Islam (2002), terdapat lima belas senyawa antosianin yang diidentifikasi dan dicirikan pada daun ubi jalar ungu (**Tabel 2.1.**).

Formula	Chemical name
$C_{33}H_{41}O_{21}$	Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside
$C_{34}H_{43}O_{21}$	Peonidin 3-sophoroside-5-glucoside
$C_{40}H_{45}O_{23}$	p-hydroxybenzoylated (cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside)
$C_{42}H_{47}O_{24}$	CaSeoylated (cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside)
$C_{41}H_{47}O_{23}$	p-hydroxybenzoylated (peonidin 3-sophoroside-5-glucoside)
$C_{42}H_{49}O_{24}$	CaSeoylated (peonidin 3-sophoroside-5-glucoside)
$C_{43}H_{49}O_{24}$	Feruloylated (cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside)
$C_{49}H_{51}O_{26}$	Cyanidin 3-(6,6?-caSeoyl-p-hydroxybenzoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{50}H_{53}O_{27}$	Cyanidin 3-(6,6?-dicaSeoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{42}H_{47}O_{24}$	Cyanidin 3-(6-caSeoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{52}H_{55}O_{27}$	Cyanidin 3-(6,6?-caSeoylferuloylsophoroside)-5-glucoside
$C_{52}H_{55}O_{27}$	Peonidin 3-(6,6?-dicaSeoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{50}H_{53}O_{26}$	Peonidin 3-(6,6?-caSeoyl-p-hydroxybenzoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{43}H_{49}O_{24}$	Cyanidin 3-(6-caSeoylsophoroside)-5-glucoside
$C_{53}H_{57}O_{27}$	Peonidin 3-(6,6?-caSeoylferuloylsophoroside)-5-glucoside

Tabel 2.1. Identifikasi senyawa antosianin daun ubi jalar ungu (Islam *et al*, 2002).

Selain memiliki kandungan flavonoid yang tinggi, daun ubi jalar ungu juga memiliki kandungan alkaloid, saponin dan steroid. Berdasarkan penelitian Pochapski *et al* (2011), menyatakan bahwa fraksi alkaloid daun ubi jalar ungu memberikan interpretasi positif pada reagen Dragendorf, yang mengindikasikan adanya kandungan alkaloid. Menurut Carvalho *et al* (2010), fungsi alkaloid dalam tumbuhan diantaranya sebagai hasil metabolisme nitrogen, pestisida, menjaga keseimbangan ion dan suhu tubuh tanaman. Sedangkan fungsi steroid pada tumbuhan yaitu sebagai hormon yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan tanaman misalnya pada pengaturan pertumbuhan akar.

Metode ekstraksi yang paling efektif pada senyawa flaonoid dan antosianin adalah dengan menggunakan metode maserasi. Menurut Mikamo *et al* (2000), metode ekstraksi flavonoid dengan metode maserasi merupakan metode paling

efektif dibandingkan dengan metode lainnya. Hal ini karena flavonoid merupakan senyawa polar yang dapat diekstraksi dengan pelarut polar. Berdasarkan penelitian Offeman *et al* (2005), ethanol lebih efektif dalam ekstraksi flavonoid dibandingkan dengan eter, serta eter lebih efektif dibandingkan dengan air. Hal ini berhubungan dengan tingkat densitas dan massa molar pelarut yang paling mendekati tingkat densitas dan massa molar flavonoid, memiliki efektivitas ekstraksi yang lebih besar. Selain itu, titik didih dari pelarut ekstraksi juga mempengaruhi hasil ekstraksi. Menurut Offeman *et al* (2005), flavonoid dapat terdenaturasi pada suhu tinggi, oleh karena itu pelarut yang memiliki titik didih rendah seperti ethanol disarankan dalam ekstraksi senyawa flavonoid.

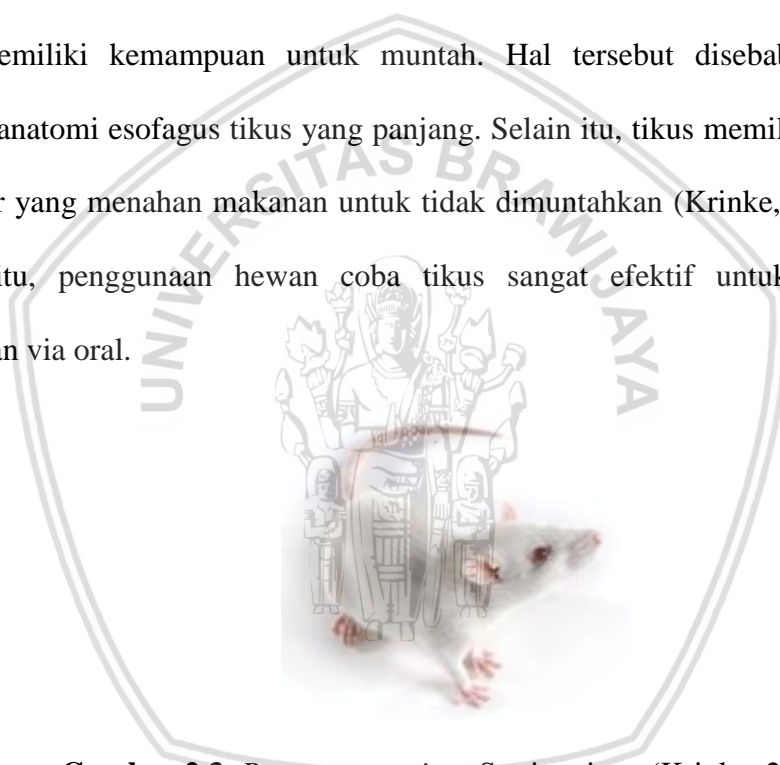
2.2 *Rattus norvegicus*

Tikus adalah hewan model yang sering digunakan untuk mempelajari fisiologi kardiovaskular dan untuk memahami berbagai keadaan patologis yang kompleks seperti hipertensi dan diabetes mellitus atau IBD. *Rattus norvegicus* adalah jenis tikus laboratorium yang paling banyak digunakan saat ini (Krinke, 2000). Berdasarkan taksonomi menurut Sharp dan Villano (2013), tikus ini diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom	: Animalia
Divisi	: Chordata
Sub divisi	: Mamalia
Kelas	: Rodentia
Ordo	: Myomorpha

Famili : Muridae
Genus : *Rattus*
Spesies : *Rattus norvegicus*.

Penggunaan tikus *Rattus norvegicus* sebagai hewan coba sangat populer diantara kalangan peneliti. Hal ini karena tikus memiliki banyak keuntungan yang memudahkan penelitian. Diantara keuntungan tersebut, salah satunya adalah tikus tidak memiliki kemampuan untuk muntah. Hal tersebut disebabkan karena struktur anatomi esofagus tikus yang panjang. Selain itu, tikus memiliki bentukan sphincter yang menahan makanan untuk tidak dimuntahkan (Krinke, 2000). Oleh karena itu, penggunaan hewan coba tikus sangat efektif untuk pemberian percobaan via oral.



Gambar 2.3. *Rattus norvegicus* Strain wistar (Krinke, 2000).

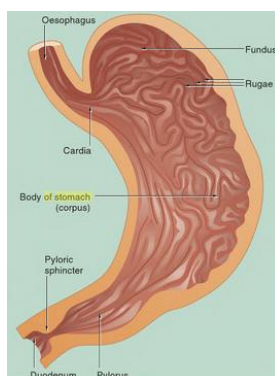
2.2.1 Anatomi Lambung *Rattus norvegicus*

Lambung merupakan salah satu organ pencernaan. Dalam bahasa ilmiah, lambung disebut dengan gaster. Menurut (Moore, 2010), lambung merupakan perbesaran dari traktus lumen digestivus. Perbesaran lumen tersebut membentuk kantung dan terdiri dari bagian *cardia*, *fundus*, *corpus* dan *pylorus*. Sedangkan

menurut Price dan Wilson (2006), secara umum lambung dibagi menjadi lambung non kelenjar dan lambung berkelenjar. Lambung kelenjar terdapat pada bagian cranial, yaitu antara perbatasan *esophagus* hingga bagian *cardia*. Sedangkan bagian kelenjar adalah bagian antara *fundus* hingga *pylorus*.

Bagian *cardia* lambung berbatasan langsung dengan *esophagus*. Sedangkan bagian *pylorus* berbatasan dengan *intestinum tenue* bagian *duodenum*. Pada lambung tikus bagian perbatasan *esophagus* dengan *cardia* terdapat bentukan *esophageal sphincter*. Hal ini menyebabkan makanan yang telah memasuki lambung tidak dapat kembali ke *esophagus*. Sedangkan pada bagian *pylorus* terdapat *pyloric sphincter* yang memungkinkan makanan yang telah memasuki intestine tidak kembali ke lambung. Hal ini juga menyebabkan tikus tidak dapat memuntahkan makanannya (Sharp dan Villano, 2013).

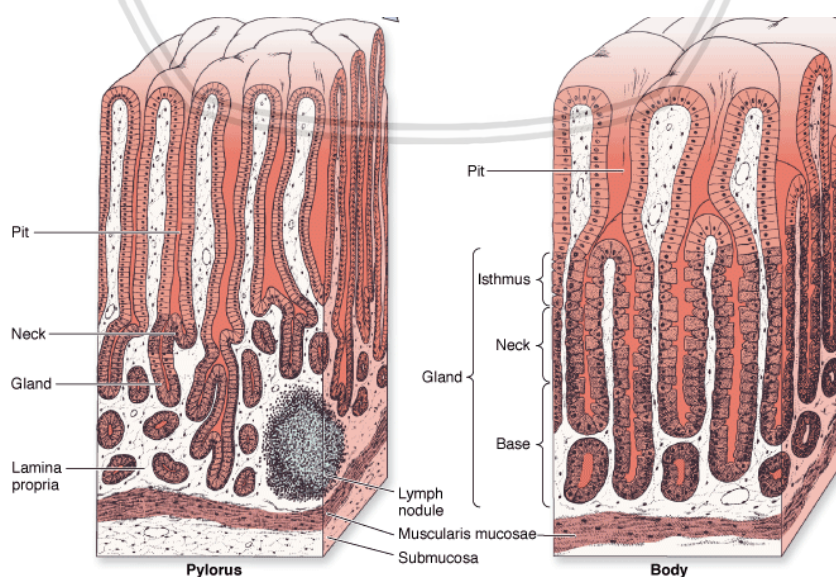
Ditinjau dari segi topografi, lambung tikus berada di sisi *sinister* abdomen membentang ke arah *dexter* hingga menempel pada *hepar*. Selain itu, pada tepi bagian tengah terbentuk lengkungan kecil yang dinamakan *curvature minor* dan lengkungan besar di lateral yang dinamakan *curvature mayor*. Lengkungan tersebut memungkinkan untuk memperluas permukaan dari lambung (Tortora dan Bryan, 2008).



Gambar 2.4. Anatomi lambung *Rattus norvegicus* (Young *et al*, 2013).

2.2.2 Histologi Lambung *Rattus norvegicus*

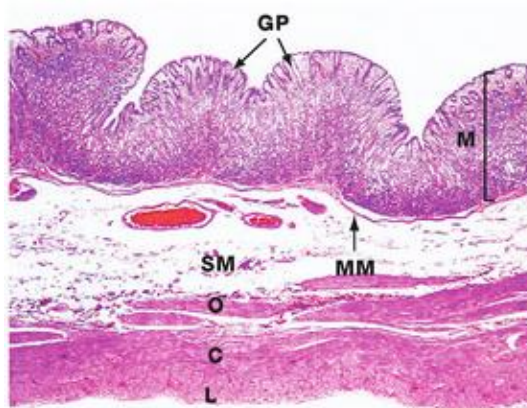
Lambung merupakan organ luminal. Hal ini dikarenakan lambung berbentuk silinder dengan rongga pada bagian dalamnya. Seperti pada organ luminal pada umumnya, lambung memiliki empat lapisan. Keempat lapisan tersebut secara berturut-turut dari dalam ke luar yaitu *tunika mukosa*, *sub mukosa*, *muscularis* dan *serosa* (Tortora dan Bryan, 2008).



Gambar 2.5. Ilustrasi lapisan histologi mukosa lambung (Mescher, 2010).

Tunika mukosa merupakan lapisan paling dalam dari lambung. Lapisan ini berperan sebagai dinding yang berbatasan langsung dengan lumen lambung. Tunika mukosa lapisan ini berbentuk lipatan-lipatan yang disebut dengan *rugae*. Lipatan-lipatan tersebut berfungsi untuk memperluas permukaan lambung, serta meminimalkan resiko luka pada permukaan lambung. Tunika mukosa dibagi menjadi *pit zone*, *istmus*, *neck zone* dan *base zone*. *Pit zone* dan *neck zone* terdiri dari sel foveolar yang berfungsi dalam pembentukan mukus sebagai perlindungan mukosa lambung. Sedangkan, regio *istmus* terdiri dari sel parietal yang berfungsi memproduksi HCL. Adapaun bagian *base zone* terdiri dari sel zymogen yang berfungsi memproduksi enzim pencernaan (Banks, 1993). Berdasarkan Banks (1993), sel foveolar berbentuk irreguler dan terwarnai basofil. Sedangkan sel parietal berbentuk bulat dan terwarnai eusinofilik. Sel zymogen terwarnai biru oleh pewarna Hematoxylen.

Tunika mukosa lambung terdiri dari tiga bagian. Tiga bagian tersebut yaitu *epitelia*, *lamina propria* dan *muscularis mukosa*. Lapisan *epitelia* merupakan bagian terdalam dan berhubungan langsung dengan *lumen*. Lapisan ini tersusun atas sel epitel. Lapisan di bawahnya yaitu *lamina propria* yang tersusun atas jaringan ikat. Sedangkan jaringan di bawahnya merupakan lapisan *muscularis mukosa* yang berbatasan dengan *tunica muscularis*. Pada *tunica muscularis* lambung, terdiri dari tiga bentukan, yaitu *oblique layer tunica muscularis*, *circular layer tunica muscularis* dan *longitudinal layer tunica muscularis*. Sedangkan *tunica serosa* pada organ lambung terdiri dari jaringan ikat lambung (Young *et al*, 2013).



Gambar 2.6. Histologi lambung, GP (*gastric pit*), M (*mucosa*), MM (*muscularis mucosa*), SM (*sub mucosa*), O (*oblique layer tunica muscularis*), C (*circular layer tunica muscularis*) dan L (*longitudinal layer tunica muscularis*) (Young *et al*, 2013).

2.3 Inflammatory Bowel Disease

2.3.1 Pengertian

Inflammatory Bowel Disease (IBD) merupakan penyakit inflamasi pada saluran pencernaan yang melibatkan reaksi sistem imun tubuh terhadap saluran pencernaan. Berdasarkan klasifikasinya, penyakit IBD dibedakan menjadi *Crohn Disease* (CD) dan Ulseratif Kolitis (UK). *Chron diseases* merupakan penyakit inflamasi saluran pencernaan yang menyerang pada semua bagian saluran pencernaan. Sedangkan ulseratif kolitis merupakan jenis IBD yang hanya menyerang kolon (Krisner *et al*, 2004).

Secara umum, penyebab penyakit IBD bisa terjadi akibat dari faktor, individu, agen infeksi dan induksi lain. Dari segi individu, terdapat beberapa individu yang lebih sensitif terhadap penyakit IBD secara genetik. Sedangkan dari

segi agen infeksi, invasi agen bakteri, parasit maupun fungi pada saluran pencernaan juga dapat menginduksi inflamasi, sehingga menyebabkan IBD. Selain itu, induksi lain misalnya makanan pedas atau obat-obatan seperti indometasin dapat menyebabkan inflamasi saluran pencernaan atau IBD (Irving *et al*, 2011).

1.3.2 Patofisiologi

Penyakit IBD menunjukkan adanya inflamasi kronis yang menyebabkan perubahan pada saluran pencernaan. Berdasarkan imunologi, terdapat perbedaan reaksi yang bergantung pada faktor penyebab penyakit IBD, akan tetapi semuanya memiliki konsekuensi yang sama, yaitu aktivasi sel T (Thoreson *et al*, 2007). Peradangan *Crohn disease* dipicu oleh sel Th1, yang mengatur respons imun yang dimediasi oleh sitokin pro-inflamasi. Sitokin IL-12 meningkat pada mukosa dalam kasus *Crohn disease*. Hal ini menyebabkan meningkatnya respon Th1 serta peningkatan IFN- γ dan pada akhirnya terjadi infiltrasi makrofag yang memimpin siklus peradangan yang tidak terkontrol. Hilangnya regulasi sel Th1 dan aktivasi makrofag yang berlebihan ini juga menyebabkan aktivasi matriks metaloproteinase, dengan cara peningkatan IFN- γ dan TNF- α , yang menyebabkan kerusakan jaringan. Ekspresi sitokin berbeda pada ulseratif kolitis dan *Crohn disease* (Head *et al*, 2003). Pada ulseratif kolitis, peradangan dianggap diatur oleh sel Th2, yang memediasi sel B dan respon antibodi. Hal ini belum terbukti, karena hanya terjadi peningkatan salah satu sitokin Th2 yaitu ekspresi IL-5, akan tetapi

terjadi peningkatan ekspresi IL-4, yang merupakan sitokin Th2 yang lain tidak meningkat (Macdonald *et al*, 2000).

Obat NSAID seperti indometasin merupakan salah satu faktor penyebab dari penyakit IBD. Patofisiologi IBD pada induksi indometasin terjadi secara langsung dan tidak langsung. Patofisiologi secara langsung terjadi akibat senyawa asam pada obat yang menyebabkan iritasi pada mukosa lambung. Sedangkan, patofisiologi tidak langsung terjadi berkaitan dengan mekanisme aksi dari obat yang menghambat enzim COX mensintesis prostanoide (Prusakiewicz *et al*, 2004).

1.3.3 Manifestasi Klinis

Gejala klinis *Crohn Disease* dapat bervariasi secara signifikan tergantung pada lokasi penyakit. Gejala utama *Crohn Disease* biasanya meliputi nyeri pada area abdomen dan diare. Menurut penelitian Bernstein *et al* (2007), kejadian ini hadir pada lebih dari 70% dari semua pasien saat diagnosis. Gejala umum lainnya yang termasuk meliputi demam dan penurunan berat badan serta melena (Simadibrata dan Syam, 2005). Gejala klinis *Crohn Disease* sangat jarang terjadi pada *esophagus* dan hanya telah dilaporkan pada 0,2% pasien yang menderita *Crohn Disease* (Krisner *et al*, 2004). Setiap pasien mungkin memiliki gejala yang berbeda berdasarkan tingkat keparahan penyakitnya. Secara umum, penyakit ini memungkinkan adanya kambuh dimana gejala mungkin terjadi untuk beberapa hari, minggu, atau bulan dan kemudian mereda dengan periode asimtomatik berlangsung selama berbulan-bulan, bertahun-tahun, atau bahkan puluhan tahun (Bernstein *et al*, 2007).

Gejala klinis dari penyakit *ulserativ colitis* meliputi perdarahan pada kolon yang ditandai dengan diare berdarah dengan warna darah pada feses berupa merah (hematochezia). Selain itu, gejala umum yang lain pada penyakit *ulserativ colitis* yaitu meliputi nyeri pada daerah abdomen, demam, penurunan berat badan, dan malaise (Yamada, 2005). Penyakit ini juga memungkinkan berkembang menjadi proktitis. Pada kasus yang parah dan frekuensi kambuh yang sering, mungkin juga terjadi inkontinensia mual, muntah, dan penurunan berat badan. Tanda-tanda lain pada kasus penyakit IBD kronis yaitu malnutrisi, penurunan berat badan, dan anemia (Irving *et al*, 2011).

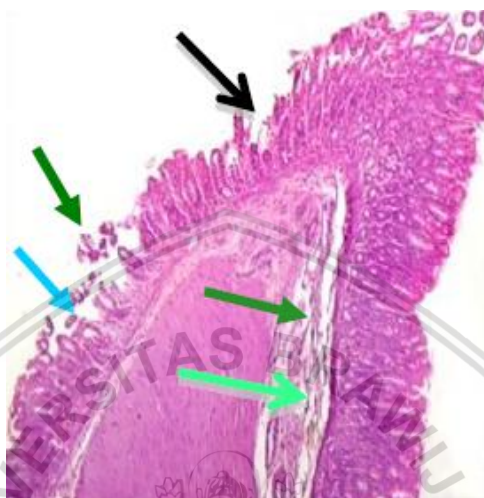
1.3.4 Manifestasi Patologis

Keterlibatan *gastroduodenal* pada kasus *Chorn Disease* sedikit lebih umum daripada *esophagus*. Situs yang paling umum pada penyakit ini biasanya terjadi pada *duodenum*, yaitu pada area *proksimal* di antrum atau *distal* di bagian akhir *duodenum* (Krisner, 2001). Gejala umum yang sering terjadi meliputi nyeri abdomen bagian *cranial*, penurunan berat badan, mual dan muntah, dan kadang hematemesis. Nyeri perut biasanya bersifat epigastrik dan gejalanya mirip dengan penyakit maag (Campieri *et al*, 2002). Stricture adalah temuan patologis utama, yang kemudian dapat menyebabkan penyumbatan. Secara histologis, peradangan akut dan kronis biasanya terlihat. Peradangan granulamatus juga sering terlihat. Ciri umum lainnya yaitu adanya edema, ulserasi dan penebalan mukosa tidak teratur (Yamada, 2005).

Kasus ulseratif kolitis dapat menyebabkan megacolon. hal ini karena terjadi penurunan kemampuan mengejan akibat adanya inflamasi pada kolon, sehingga terjadi akumulasi feses pada kolon dan menyebabkan *megacolon*. *Megacolon* tersebut merupakan komplikasi ulseratif yang mengancam jiwa karena akumulasi feses pada kolon dapat menyebabkan intoksikasi yang berakibat adanya gangguan multi organ. Hal ini karena keadaan megacolon dapat menyebabkan ruptur jaringan kolon. Oleh sebab itu, bakteri pada kolon dapat mencemari peritoneal dan menyebabkan infeksi pada organ lain pada cavum peritoneal. Kejadian *megacolon* tersebut sering terlihat dalam beberapa bulan pertama diagnosis. Hal ini ditandai dengan dilatasi kolon dengan toksisitas sistemik (Thoreson *et al*, 2007). Gejalanya klinisnya meliputi distensi abdomen, demam, peningkatan jumlah sel darah putih, anemia, hipotensi, atau tingkat kesadaran yang berubah (Irving *et al*, 2011). Selain itu, peradangan terlihat di seluruh dinding usus dengan nekrosis dan degenerasi miosit. Saat penyakit berlangsung, dinding usus bisa menjadi sangat tipis karena distensi dan nekrosis (Gramlich dan Robert, 2007).

Secara histopatologi, peradangan yang terjadi pada ulseratif kolitis terbatas pada mukosa dan submukosa. Pada fase akut, dapat ditemukan infiltrasi neutrofil pada kriptus usus dan membentuk abses crypt (Simadibrata dan Syam, 2005). Selain itu, dapat terjadi erosi atau ulserasi superfisial. Sedangkan pada kasus yang lebih parah, ulserasi dapat menembus lapisan yang lebih dalam hingga pada lapisan submukosa bagian dalam penyakit yang lebih parah serta terjadi distorsi dan deplesi sel epitel (Gramlich dan Robert, 2007). Pada kondisi akut juga dapat mengakibatkan penurunan sel goblet. Selain itu kriptus pada mukosa lambung

menjadi lebih tidak jelas, pendek, dan menurun jumlahnya. Kripta yang hancur dari kasus ini akan beregenerasi dengan sel Paneth, yang biasanya tidak terlihat melewati *flexura hepatica* (Magroa *et al*, 2013).



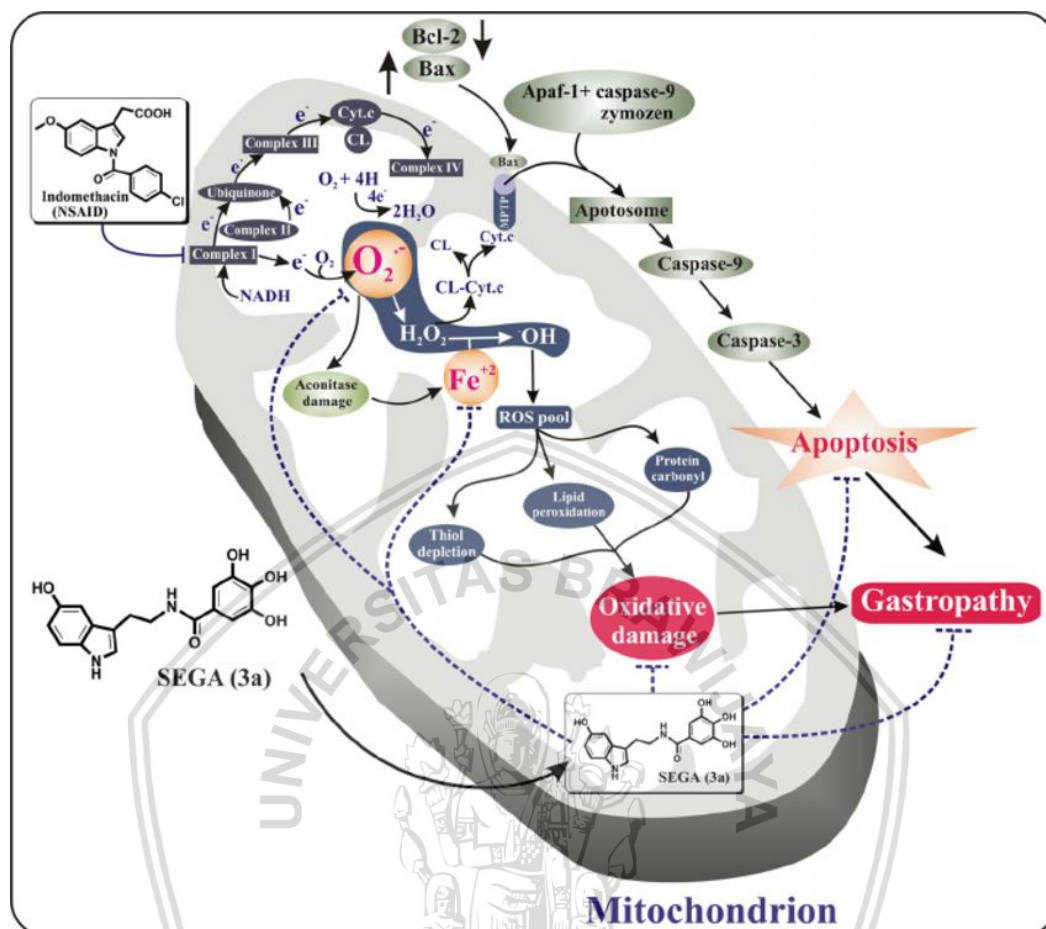
Gambar 2.7. Histopatologi inflamasi jaringan lambung akibat administrasi indometasin 15mg/kgBB pada tikus (Yadav *et al*, 2012).

Keterangan: (↑) erosi sel epitel, (↓) kerusakan mukosa, (↑) eksudat inflamasi, (↑) kerusakan sub mukosa.

2.4 Indometasin

Indometasin merupakan obat anti inflamasi non steroid (NSAID) kelompok asam para-klorobenzoat. Obat ini biasanya digunakan untuk menangani rematik, gout dan osteoarthritis (Tjay dan Kirana, 2007). Mekanisme kerja obat ini yaitu dengan menghambat pelepasan prostaglandin, sehingga tidak terjadi manifestasi inflamasi (Kar, 2005). Menurut Tjay dan Kirana, (2007), obat ini 90% berikatan dengan protein dan mengambil alih ikatan senyawa lain. Oleh karena itu, obat ini sangat memungkinkan menimbulkan toksisitas. Selain itu, obat ini bersifat mengiritasi lambung dan harus dikonsumsi setelah makan.

Indometasin memiliki efek analgesik dan antipiretik dengan mekanisme farmakologisnya yaitu menghambat sintesis prostaglandin yang terlibat dalam rasa sakit, demam, dan pembengkakan. Indometasin menghambat aktivitas katalitik dua isoform enzim siklooksigenase (COX), yaitu COX-1 dan COX-2 (Hatazawa *et al*, 2006). Enzim tersebut bertanggung jawab dalam mengkatalisis tahap pembatas laju sintesis prostaglandin melalui jalur asam arakidonat. COX-1 merupakan enzim yang dinyatakan secara konstitutif yang terlibat dalam perlindungan mukosa lambung, trombosit dan fungsi ginjal. Enzim ini bekerja mengkatalisis konversi asam arakidonat menjadi prostaglandin (PG) G₂ dan PGG₂ ke PGH₂. COX-1 terlibat dalam jalur sintesis PGE₂, PGD₂, PGF₂ α , PGI₂ (juga dikenal sebagai prostacyclin) dan tromboksan A₂ (TXA₂). COX-2 secara konstitutif diekspresikan dan diinduksi oleh adanya rangsangan inflamasi (Prusakiewicz *et al*, 2004). Enzim ini ditemukan pada sistem saraf pusat, ginjal, rahim dan organ lainnya. Enzim ini juga mengkatalisis konversi asam arakidonat menjadi PGG₂ dan PGG₂ ke PGH₂. Pada jalur yang dimediasi COX-2, PGH₂ kemudian diubah menjadi PGE₂ dan PGI₂ (juga dikenal sebagai prostasiklin). PGE₂ terlibat dalam mediasi peradangan, nyeri dan demam (Vane dan Jack, 2012).



Gambar 2.8. Kerusakan mitokondria akibat NSAID apoptosis (Campieri *et al*, 2002).

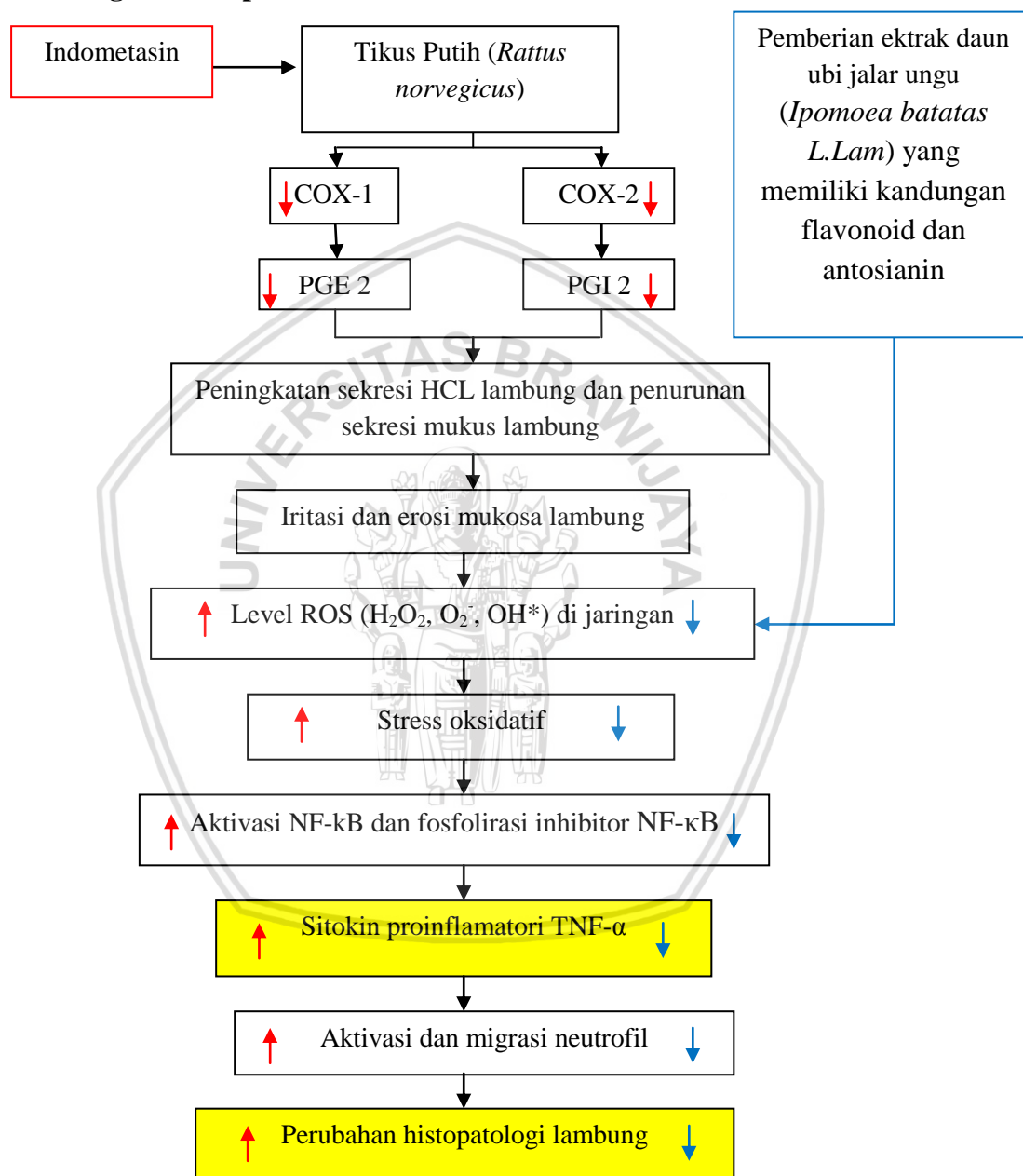
Molekul indometasi dapat menyebabkan kerusakan mitokondria sel lambung, sehingga mengganggu siklus posfolirasi oksidatif pada complex I-IV. Hal ini menyebabkan terjadinya *partial electron transfer chain* (ETC) atau gangguan transfer elektron pada molekul oksigen dalam respirasi sel, sehingga molekul oksigen pada sisa respirasi sel gagal direduksi menjadi air dan berada dalam sel dalam bentuk ROS (Bhattacharyya, 2014). Banyaknya akumulasi ROS pada jaringan menyebabkan terjadinya stress oksidatif. Keadaan stress oksidatif menyebabkan molekul ROS dapat berikatan pada protein anti-apoptosis pada

mitokondria dan melepaskan *cytosome-c*. *Cytosome-c* pada sitoplasma menyebabkan aktivasi enzim caspase sebagai eksekutor apoptosis (Campieri *et al*, 2002).









BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1. Kerangka konsep penelitian

Keterangan gambar.

-  : Induksi Indometasin
-  : Terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*)
-  : Variabel yang diteliti
-  : Jalur dalam tubuh tikus
-  : Aktivasi setelah induksi indometasin
-  : Aktivasi setelah terapi ekstrak

Indometasin merupakan obat *non steroid anti-inflammatoy drugs* (NSAID) yang bekerja dengan memblokir pelepasan prostaglandin. Senyawa asam berupa 1-(p-chlorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid pada indometasin dapat secara langsung menyebabkan iritasi pada mukosa lambung. Selain itu, mekanisme lain dari obat indometasin dalam menginduksi IBD adalah berikatan dengan bagian atas situs aktif dari enzim COX. Hal ini dapat mencegah ikatan antara enzim COX dengan asam arakidonat, sehingga asam arakidonat tidak dapat diubah menjadi prostanoid. Oleh karena itu terjadi gangguan homeostatis mukosa lambung diantaranya adalah penurunan produksi mukus dan peningkatan HCL lambung.

Indometasin menghambat dari kinerja enzim COX1 dan COX2, namun obat ini lebih selektif dalam menghambat isoform COX1 dibandingkan dengan COX2. Secara fisiologis, enzim COX1 bertanggung jawab atas produksi PG2 yang bertugas dalam mempertahankan fisiologi tubuh seperti pada produksi mukus dan kontrol asam lambung. Ketika terjadi inhibisi enzim COX1 oleh indometasin, maka akan menyebabkan manifestasi berupa penurunan produksi mukus lambung dan kenaikan produksi asam lambung. Penurunan produksi

mukus ini dapat menyebabkan iritasi pada lambung yang berefek pada adanya inflamasi dan erosi pada mukosa lambung.

Indometasin mampu merusak kinerja mitokondria dalam sel dengan cara mengganggu siklus posfolirasi oksidatif pada complex I-IV. Hal ini menyebabkan terjadinya *partial electron transfer chain* (ETC) atau gangguan transfer elektron pada molekul oksigen dalam respirasi sel. Oleh karena itu, molekul oksigen pada sisa respirasi sel gagal direduksi menjadi air dan berada dalam sel dalam bentuk ROS. Produksi ROS yang berlebih menyebabkan peningkatan aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) dan posforilasi dari inhibitor NF- κ B. Peningkatan aktivasi NF- κ B menginisiasi dari sitokin pro inflammatory seperti Tumor Nekrosis Faktor α (TNF α) sehingga menyebabkan infiltrasi neutrofil. Agregasi neutrofil ini dapat menyebabkan perubahan histopatologi pada mukosa organ lambung.

Ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) kaya akan kandungan polifenol berupa flavonoid dan antosianin. Kandungan flavonoid ini mampu menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh, sehingga mampu menurunkan kadar ROS dalam jaringan. Oleh karena itu, hal tersebut dapat menurunkan aktivasi NF- κ B. Ketika kadar NF- κ B turun, secara langsung terjadi penurunan ekspresi TNF α , karena aktivasi NF- κ B sebagai inisiator TNF α ditekan. Oleh karena itu infiltrasi neutrofil dapat dihambat, sehingga tidak terjadi inflamasi.

Antosianin memiliki kemampuan untuk mengikat ROS seperti superoksida (O_2^-), singlet oksigen (1O_2), peroksida (ROO^-), Hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksilradikal (OH^\cdot). Mekanisme antioksidan antosianin diantaranya yaitu

dengan secara langsung berperan sebagai ROS *scavenging*, memberikan donor ion hidrogen (H^+) pada senyawa ROS agar menjadi stabil, meningkatkan kapasitas penyerapan oksigen radikal sel, mengurangi pembentukan oksidatif dengan cara membuat aduksi dalam DNA sel, serta mengurangi peroksidasi lipid. Aktivitas antioksidan antosianin sebagian besar terjadi dengan adanya gugus hidroksil pada posisi 3 dari cincin C dan juga pada posisi 30, 40 dan 50 pada cincin B molekul. Sehingga dapat mencegah produksi anion superoksida dengan menghambat XO.

3.2 Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka konsep yang sudah dipaparkan, maka diperoleh hipotesa penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) dapat menurunkan ekspresi TNF- α pada tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) hasil induksi indometasin.
2. Pemberian ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) dapat memperbaiki kerusakan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) hasil induksi indometasin.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari 2018 – Mei 2018 di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB), serta pembuatan preparat histopatologi dan imunohistokimia Laboratorium Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini menggunakan hewan coba tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar yang berumur 8-12 minggu dengan berat badan 150 – 200 gram, dengan berat badan rata-rata tikus coba adalah 160 gram. Hewan coba tersebut diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Percobaan (UPHP) Universitas Gadjah Mada (UGM) Yogyakarta. Sebelum dilakukan perlakuan, dilakukan aklimatisasi terlebih dahulu pada tikus coba selama tujuh hari. hal ini bertujuan agar tikus dapat beradaptasi dengan lingkungan laboratorium, sehingga tidak terjadi faktor stress yang mempengaruhi hasil penelitian. Penentuan jumlah sampel pada penelitian ini dilakukan dengan perhitungan menggunakan rumus Federer (Ariola, 2006) sebagai berikut:

$$t(n-1) \geq 15$$

$$5(n-1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 20/5$$

$$n \geq 4$$

Keterangan:

n = besar sampel

t = jumlah perlakuan

Berdasarkan hasil perhitungan di atas, didapatkan hasil jumlah sampel minimal pada setiap kelompok penelitian yaitu 4 ekor tikus. Sedangkan pada penelitian ini terdapat 5 kelompok perlakuan. Dengan begitu minimal jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 20 ekor tikus.

4.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan bersifat eksperimental. Kelompok penelitian hewan coba dibagi menjadi 5, yaitu kelompok 1 yang merupakan tikus tanpa perlakuan (kontrol negatif). Sedangkan kelompok 2 merupakan tikus yang hanya diinduksi IBD dengan indometasin 15 mg/kgBB (kontrol positif). Kemudian kelompok 3 merupakan tikus yang diinduksi IBD dengan indometasin 15 mg/kgBB dan diberi perlakuan terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) dengan dosis 600 mg/kgBB. Lalu kelompok 4 merupakan tikus yang diinduksi IBD dengan indometasin 15 mg/kgBB dan diberi perlakuan terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) dengan dosis 700 mg/kgBB. Sedangkan kelompok 5 merupakan tikus yang diinduksi IBD dengan indometasin 15 mg/kgBB dan diberi perlakuan terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) dengan dosis 800 mg/kgBB.

Tabel 4.1. Rancangan kelompok penelitian.

Variabel yang diamati	Ulangan			
Penurunan ekspresi TNF α dan histopatologi lambung	1	2	3	4
Kelompok 1 (kontrol negatif)				
Kelompok 2 (kontrol positif)				
Kelompok 3 (Terapi 600 mg/kgBB)				
Kelompok 4 (Terapi 700 mg/kgBB)				
Kelompok 5 (Terapi 800 mg/kgBB)				

4.4 Variabel Penelitian

Variabel yang diamati pada penelitian ini meliputi:

Variabel bebas	:Induksi IBD dengan indometasin dosis tunggal 15 mg/kgBB dan terapi ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (<i>Ipomoea batatas</i> L.Lam).
Variabel tergantung	:Ekpresi TNF- α dan gambaran histopatologi organ lambung.
Variabel kontrol	:Umur, berat badan, jenis kelamin, pakan, minum, strain tikus yang digunakan dan kondisi eksperimental.

4.5 Materi Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar, ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas*

L.Lam), indometasin, minyak jagung, aquades, KCl, H₂O, KH₂PO₄, NaCl, NaCl Fisiologis 0,9%, Na₂HPO₄, NaOH, H₂O₂ 3%, PFA 4%, Antibodi *Primer (Anti Rat TNF- α)*, Antibodi Sekunder dengan label biotin (*Biotinylated Rabbit Anti-Rat IgG Antibody*), BSA (*Bovine Serum Albumin*), DAB (*Diamino Benzidine*), HE (*Hematoxyline Eosin*), Parafin, Xylol dan Entellan.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi tabung reaksi, blender, labu takar (ukuran 10 mL, 100 mL, 500 mL dan 1000 mL), pipet tetes, stirer, spatula, evaporator, alumunium foil, gelas ukur, timbangan digital, mikropipet ukuran 10 μ L, 20 μ L, 200 μ L dan 1000 μ L), *blue tip*, *yellow tip*, sentrifugator, inkubator, freezer, pinset, pH meter digital, *waterbath*, *microtube* 1,5 mL, masker, hand gloves, sondae lambung, *dissecting set*, pot organ, plate, gelas objek, cover slip, mikroskop.

4.6 Tahapan Penelitian

4.6.1 Persiapan Hewan Coba

Sebelum dilakukan penelitian, tikus model *Rattus novergicus* jantan diaklimatisasi terlebih dahulu selama tujuh hari. kemudian, tikus tersebut dibagi kedalam lima kelompok perlakuan. Setiap kelompok perlakuan teridi atas empat ekor tikus model. Hewan coba tersebut diletakkan pada lima kandang berupa kotak plastik berukuran 30 x 50 x 12 cm. Kandang hewan coba tersebut dilengkapi dengan alas berupa sekam gabah padi, tempat minum bertipe *nipple*, air mineral secara ad libitum serta pakan standart BR2 (*comfeed*).

Kandang tikus coba diletakkan di laboratorium farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya (FKUB) serta pada suasana yang tenang dan bebas polutan. Ruangan pemeliharaan hewan coba memiliki suhu optimum 22-24°C dengan kelembapan 50-60% serta ventilasi yang cukup.

4.6.2 Induksi IBD dengan Indometasin

Hewan model *Inflammatory Bowel Disease* (IBD) pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan induksi dosis tunggal obat NSAID berupa indometasin. Dosis induksi IBD dengan indometasin yaitu 15mg/kgBB (Aulanni'am *et al*, 2011). Rata-rata berat badan hewan coba yang digunakan pada penelitian ini adalah sekitar 160 gram. Oleh karena itu, dibutuhkan sekitar 3,0 mg indometasin untuk menginduksi satu tikus coba. Pemberian indometasin pada penelitian ini dilakukan secara per oral menggunakan sondae lambung. Sedangkan indometasin yang digunakan dilarutkan terlebih dahulu dengan Na₂CO₃ 5% untuk mempermudah administrasi. Setelah dilakukan induksi, hewan coba diinkubasi selama 24 jam, sehingga obat bereaksi dan menimbulkan IBD.

4.6.3 Pembuatan Ekstrak Daun Ubi jalar Ungu

Pembuatan ekstrak daun ubi jalar ungu dilakukan dengan metode maserasi. Sebelum dilakukan ekstraksi, daun ubi jalar ungu dikeringkan terlebih dahulu. Kemudian daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender. Setelah itu dilakukan maserasi dengan pelarut ethanol selama 48 jam pada *shaker*. Kemudian, sampel disaring menggunakan kertas saring dan menghasilkan filtrat

dan residu. Setelah itu, filtrat dievaporasi menggunakan evaporator dengan suhu 40°C, sehingga menghasilkan ekstrak.

4.6.4 Terapi Ekstrak Daun Ubi Jalar Ungu

Penatalaksanaan pemberian terapi ekstrak daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) pada penelitian ini dilakukan dengan dosis 600 mg/kgBB, 700 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Penentuan dosis terapi tersebut merupakan pengembangan dari penelitian oleh Riyansyah *et al* (2015), yang menunjukkan efek toksik pada dosis 900mg/kgBB. Pemberian ekstrak daun ubi jalar ungu dilakukan sekali sehari secara per oral menggunakan sonde lambung. Ekstrak yang diberikan pada hewan coba dilarutkan dalam 1 ml aquades untuk memudahkan administrasi dan lama terapi yang dilakukan adalah 7 hari.

4.6.5 Isolasi Organ Lambung

Setelah dilakukan perlakuan terapi ekstrak daun ubi jalar ungu selama 14 hari, hewan coba dilakukan euthanasia. Hal ini bertujuan untuk mengkoleksi organ agar dapat melihat efek terapi. Metode euthanasia yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan teknik *disslocatio os occipitale*. Teknik ini dilakukan dengan menahan pertemuan antara os occipitale dan os atlas, kemudian dilakukan gerakan menarik sehingga keduanya berpisah. Teknik euthanasia ini dinilai efektif dan efisien.

Setelah dilakukan proses euthanasia, hewan coba dilentangkan pada papan seksi. Posisi hewan coba pada papan seksi yaitu *dorsoventral*, hal ini untuk

memudahkan pengambilan organ lambung. Kemudian dilakukan insisi pada area *abdomen* sehingga *cavum abdomen* terbuka. Setelah itu fiksasi organ lambung menggunakan pinset. Kemudian organ lambung diisolasi dengan cara digunting. Sampel organ yang sudah diambil dicuci dengan NaCl fisiologis dan dimasukkan pada pot organ berisi netral formalin 10% agar tetap awet.

4.6.6 Pembuatan Preparat Organ

4.6.6.1 Fiksasi

Tujuan dari dilakukannya fiksasi pada pembuatan preparat histopatologi adalah untuk mencegah adanya kerusakan jaringan serta menjaga keutuhan jaringan dengan menghentikan proses metabolisme pada jaringan yang diambil. Proses fiksasi jaringan ini dilakukan dengan memotong organ lambung. Setelah itu organ dibersihkan menggunakan cairan NaCl fisiologis 0,9%. Kemudian, organ dimasukkan pada wadah yang berisi netral formalin 10% .

4.6.6.2 Dehidrasi

Proses dehidrasi pada pembuatan preparat histopatologi adalah untuk mengeluarkan cairan pada sel, sehingga rongga pada sel dapat digantikan dengan parafin cair. Proses dehidrasi ini meliputi perendaman sampel pada alkohol dengan konsentrasi bertingkat mulai dari 70% (selama 24 jam), 80% (selama 2 jam), 90% (selama 20 menit) dan 95% (selama 20 menit). Setelah itu, direndam pada cairan alkohol absolute I, II dan III masing-masing selama 20 menit.

4.6.6.3 *Clearing*

Tujuan dari proses *clearing* ini adalah untuk membersihkan cairan dehidrasi, serta menjadikan jaringan lebih jernih, sehingga menjadi lebih mudah untuk diwarnai. Proses *clearing* pada pembuatan preparat meliputi perendaman pada larutan xylol I (selama 20 menit) dan xylol II (selama 30 menit). Proses ini dilakukan pada suhu 60°C.

4.6.6.4 Infiltrasi Parafin

Tujuan dilakukannya tahap infiltrasi parafin ini adalah untuk menggantikan posisi bahan dehidran dan *clearing* pada sel dengan parafin. Proses infiltrasi parafin pada pembuatan preparat meliputi tiga tahap. Tahap pertama yaitu dengan merendaman preparat pada cairan parafin 1, kemudian dipanaskan pada oven selama sekitar 1 jam. Langkah selanjutnya yaitu perendaman preparat pada cairan parafin 2, kemudian dipanaskan pada oven selama sekitar 1 jam. Selanjutnya, dilakukan perendaman pada cairan parafin 3 dan kemudian dipanaskan pada oven dengan suhu 56°C selama sekitar 1 jam.

4.6.6.5 *Embedding*

Proses *embedding* pada pembuatan preparat ini bertujuan untuk mengisi jaringan dengan *embedding* media, sehingga jaringan menjadi terikat dan mempertahankan bentuk jaringan seperti pada bentuk aslinya. Selain itu, proses ini juga bertujuan untuk memudahkan proses pemotongan (*sectioning*) preparat.

Proses *embedding* ini meliputi perendaman sampel ke dalam parafin yang telah diletakkan cetakan. Kemudian sampel dibekukan agar mudah diangkat.

4.6.6.6 Sectioning

Tujuan dari proses *sectioning* pada pembuatan preparat jaringan adalah untuk menghasilkan ketebalan jaringan yang dapat diamati di bawah mikroskop. Hal ini karena, preparat yang terlalu tebal tidak akan terlihat jelas di mikroskop. Proses *sectioning* ini dilakukan dengan trimming terlebih dahulu. Kemudian, preparat pada tiap balok parafin dipotong dengan ketebalan 4-5 μm . Setelah itu, hasil preparat disimpan pada air hangat dengan suhu sekitar 38-40⁰C. Hal ini berguna untuk meluruskan lipatan pada preparat. Kemudian, hasil irisan diletakkan pada gelas objek dan dilakukan pengeringan. Setelah itu preparat disimpan pada inkubator dengan suhu 38-40⁰C sebelum dilakukan proses pewarnaan.

4.6.6.7 Pewarnaan

Proses pewarnaan pada pembuatan preparat histopatologi bertujuan untuk memberikan warna pada preparat, sehingga memudahkan dalam mengidentifikasi jaringan di bawah mikroskop. Zat pewarna yang digunakan pada penelitian ini adalah zat HE (*Hematoksilin- Eosin*). Zat hematoxilin memberikan warna biru pada material basa seperti pada inti sel. Sedangkan zat eosin memberikan warna merah pada material asam, seperti sitoplasma dan jaringan ikat.

Proses pewarnaan HE pada preparat dimulai dengan deparafinasi dengan merendam sampel pada larutan xylol I dan II masing-masing selama 5 menit. Kemudian dilakukan proses rehidrasi dengan mencelupkan pada larutan alkohol 95%, 90%, 80%, dan 70% masing-masing selama 5 menit secara berurutan. Setelah itu, preparat dicuci pada air mengalir sekitar 15 menit dengan hati-hati, lalu direndam pada akuades selama 5 menit. Kemudian preparat direndam pada larutan HE selama 10 menit, dan dilakukan pencucian pada air mengalir sekitar 15 menit dengan hati-hati, lalu direndam pada akuades selama 5 menit. Setelah itu dilakukan proses dehidrasi dengan merendam preparat pada alkohol bertingkat 80%, 90% dan 95% masing-masing dalam waktu beberapa detik dan secara berurutan, serta merendam preparat pada alkohol absolute I, II dan III masing-masing selama 5 menit dan secara berurutan. Kemudian dilakukan proses *clearing* dengan merendam preparat pada larutan xylol I dan II masing-masing selama 5 menit. Terakhir, dilakukan proses *mounting* dengan larutan entellan dan ditutup dengan cover slip.

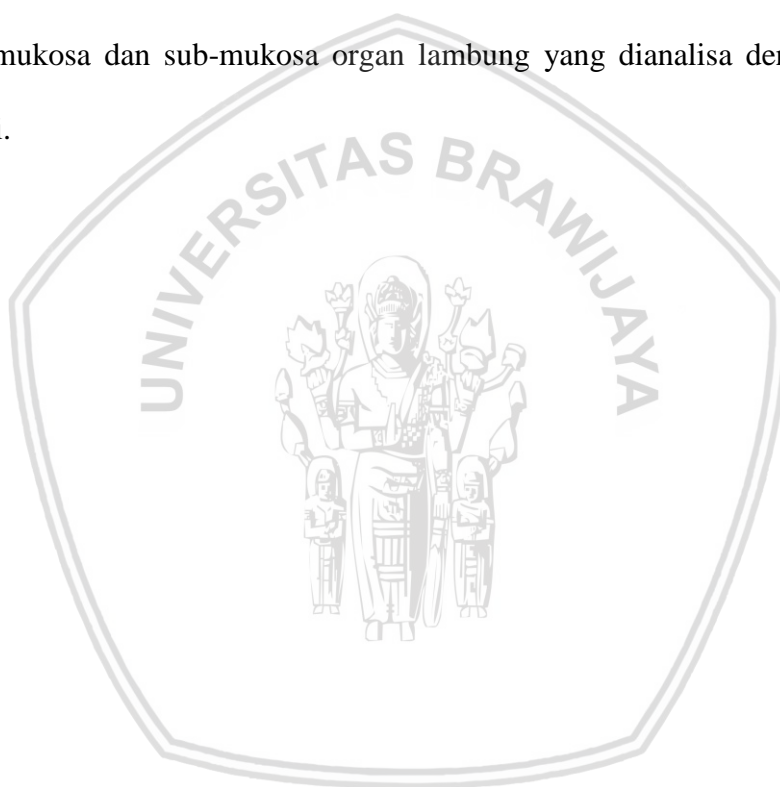
4.6.6.8 Pembuatan Preparat Imunohistokimia

Tujuan dari pembuatan preparat imunohistokimia adalah untuk menentukan ekspresi TNF- α pada jaringan. Langkah pertama pembuatan preparat imunohistokimia yaitu dengan merendam preparat organ pada larutan xylol I dan II masing-masing selama 5 menit. Kemudian, preparat direndam pada alkohol bertingkat absolut, 90%, 80%, dan 70% secara berurutan masing-masing selama 5 menit. Selanjutnya, preparat dicuci menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4

selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Setelah itu, ditetaskan larutan 3% H₂O₂ (hidrogen peroksida) selama 20 menit, lalu dicuci kembali menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Setelah itu, dilakukan proses blok menggunakan 1% BSA dalam PBS pada suhu ruang selama 30 menit, lalu dicuci kembali menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Kemudian, dilakukan proses inkubasi dengan antibodi primer (*Anti Rat TNF- α*) pada suhu 4⁰C selama 24 jam, lalu dicuci kembali menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Setelah itu, dilakukan proses inkubasi dengan antibodi sekunder berlabel biotin (*Biotinylated Rabbit Anti-Rat IgG Antibody*) selama 1 jam, lalu dicuci kembali menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Kemudian, preparat ditetesi DAB (*Diamino Benzidine*) selama 10 menit pada suhu ruang, lalu dicuci kembali menggunakan larutan PBS dengan pH 7,4 selama 5 menit dan diulang sebanyak 3 kali. Selanjutnya, dilakukan proses *counterstaining* menggunakan Mayer Hematoxylen selama 5 menit, lalu dicuci dengan air mengalir secara hati-hati dan dibilas menggunakan akuades serta dikeringkan. Terakhir, dilakukan proses *mounting* dengan larutan *entellan* dan ditutup dengan cover slip. Hasil preparat diamati di bawah mikroskop (Olympus BX51) dengan perbesaran 400x. Sedangkan pada pengamatan ekspresi TNF- α dilakukan pada 5 lapang pandang dengan penilaian presentase area dengan program *Immuno ratio*.

4.8 Analisa Data

Analisa data pada penelitian ini dilakukan dengan pendekatan kuantitatif dan kualitatif. Pendekatan kuantitatif pada penelitian ini dilakukan pada parameter ekspresi TNF- α menggunakan metode ANOVA (*Analysis of Variance*) dan dilanjutkan dengan uji lanjutan BNJ (Beda Nyata Jujur) α -0,05. Sedangkan pendekatan kualitatif pada penelitian ini dilakukan pada pengamatan histopatologi lapisan mukosa dan sub-mukosa organ lambung yang dianalisa dengan metode deskripsi.



BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Pengaruh Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) terhadap Ekspresi TNF- α Organ Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model IBD yang Diinduksi dengan Indometasin

Pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) pada beberapa dosis menunjukkan hasil yang berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap ekspresi TNF- α organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi dengan indometasin, seperti yang dapat dilihat pada **Tabel 5.1**. Hasil pengukuran ekspresi TNF- α yang diperoleh, dianalisa secara kuantitatif menggunakan aplikasi *Microsoft excel* dan *SPSS for Windows* dengan metode analisis statistik ragam *One Way ANOVA*. Selanjutnya data analisis statistika yang diperoleh dilanjutkan dengan uji Tukey dengan $\alpha = 0,05$. Perhitungan statistika secara lengkap pada penelitian ini dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

Prinsip dari preparat IHK pada penelitian ini adalah dengan menganalisa jumlah TNF- α yang diidentifikasi dengan warna kecoklatan. Warna kecoklatan pada preparat IHK didapat dari reaksi TNF- α yang diikat oleh antibodi primer (*Anti Rat TNF- α*) yang komplemen dengan protein TNF- α pada preparat. Kemudian, antibodi primer yang berikatan dengan TNF- α dikenali oleh antibodi sekunder yang dilabeli oleh enzim biotin (*Biotinylated Rabbit Anti-Rat IgG Antibody*) yang memiliki susunan asam amino yang komplemen dengan antibodi primer. Selanjutnya, enzim biotin pada antibodi sekunder tersebut akan dikenali oleh kromagen DAB yang akan menginterpretasikan warna coklat. Kemudian,

dilakukan proses *counterstaining* menggunakan Mayer Hematoxylen untuk memberikan background biru pada sel, sehingga pada proses analisa menggunakan immuno rasio dapat dihitung area reaksi TNF- α (ditandai dengan warna coklat) yang dibandingkan dengan area nuklear (ditandai dengan warna biru).

Tabel 5.1 Rata-rata ekspresi tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*)

Sumber Keragaman	Ekspresi TNF- α %			SEM
	Rata-rata	Peningkatan terhadap Kontrol Negatif	Penurunan terhadap Kontrol Positif	
Kontrol Negatif	4,85 ^a	-	-	0,290
Kontrol Positif (IBD)	80,48 ^e	75,63	-	1,233
Terapi 600mg/kgBB	59,63 ^d	-	20,85	1,468
Terapi 700mg/kgBB	35,15 ^c	-	45,33	1,078
Terapi 800mg/kgBB	12,58 ^b	-	67,9	0,554

Keterangan: Notasi a, b, c, d, dan e menunjukkan ada perbedaan antar kelompok perlakuan

Berdasarkan **Tabel 5.1**, dapat diperoleh informasi bahwa ekspresi TNF- α organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD yang diinduksi dengan indometasin pada kelompok 2 (kontrol positif) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan kelompok 1 (kontrol negatif). Ekspresi TNF- α organ lambung tikus pada kelompok kontrol negatif menunjukkan hasil 4,85%, jauh lebih rendah dibandingkan dengan ekspresi TNF- α organ lambung tikus kelompok kontrol positif yaitu 80,48%. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Riyansyah *et al* (2015), yang menyatakan bahwa administrasi indometasin

dengan dosis 15 mg/kgBB secara per oral pada tikus dapat menyebabkan iritasi dan kerusakan pada mukosa lambung. Sehingga, hal tersebut memicu ekspresi TNF- α sebagai sitokin pro-inflamasi. Nilai SEM (*Standart error measuemenet*) pada kelompok 1 dan kelompok 2 adalah masing-masing 0,290 dan 1,233, yang lebih rendah dibandingkan hasil rata-rata yang didapat. Sehingga dapat dikatakan bahwa tingkat kesalahan pada data hasil rata-rata kadar TNF- α tersebut rendah.

Ekspresi TNF- α organ lambung tikus kelompok kontrol positif lebih tinggi dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif. Perbedaan ekspresi TNF- α pada kelompok 2 adalah 75,63% lebih tinggi dibandingkan dengan ekspresi TNF- α pada kelompok kontrol negatif. Hal ini karena indometasin menghambat dari kinerja enzim COX1 dan COX2, serta mampu merusak kinerja mitokondria dalam sel dengan cara mengganggu siklus posforilasi oksidatif pada complex I-IV. Hal ini menyebabkan terjadinya *partial electron transfer chain* (ETC) atau gangguan transfer elektron pada molekul oksigen dalam respirasi sel. Oleh karena itu, molekul oksigen pada sisa respirasi sel gagal direduksi menjadi air dan berada dalam sel dalam bentuk ROS. Produksi ROS yang berlebih menyebabkan aktivasi *Nuclear Factor kappa B* (NF- κ B) pada nukleus dan posforilasi dari inhibitor NF- κ B. Peningkatan aktivasi NF- κ B menginisiasi dari sitokin pro inflammatory seperti TNF- α .

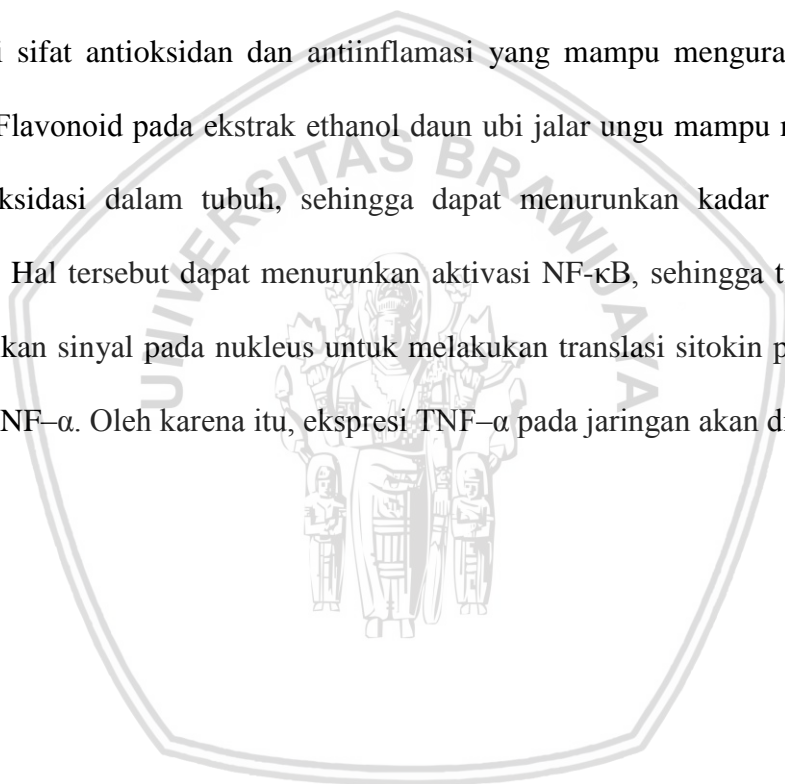
Kelompok 3, 4 dan 5 merupakan kelompok terapi IBD menggunakan ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu dengan dosis masing-masing 600 mg/kgBB, 700 mg/kgBB dan 800 mg/kgBB. Hasil rata-rata ekspresi TNF- α pada kelompok 3, 4 dan 5 masing-masing adalah 59,63%, 35,15% dan 12,58%. Berdasarkan

kontrol positif (kelompok 2), terjadi penurunan ekspresi TNF- α pada kelompok 3, 4 dan 5 masing-masing adalah 20,85%, 45,33% dan 67,9% lebih rendah dari presentase TNF- α kelompok 2. Penurunan ekspresi ekspresi TNF- α pada kelompok 3, 4 dan 5 terhadap kontrol positif menunjukkan bahwa kandungan antosianin dan flavonoid pada ekstrak daun ubi jalar ungu memiliki efek dalam menurunkan inflamasi pada IBD. Nilai SEM (*Standart error of measurement*) pada kelompok 3, 4 dan 5 adalah masing-masing 1,463, 1,078 dan 0,554, yang menandakan bahwa tingkat kesalahan pada data hasil tersebut rendah.

Analisa statistik pada ekspresi TNF- α organ lambung kelompok 3 (terapi dengan dosis 600mg/kgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan ekspresi TNF- α organ lambung kelompok 2 (kontrol positif), serta memiliki ekspresi TNF- α organ lambung yang lebih rendah dari kontrol positif. Hal tersebut menunjukkan adanya pengaruh pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu terhadap ekspresi TNF- α organ lambung tikus model IBD. Ekspresi TNF- α organ lambung kelompok 4 (terapi dengan dosis 700mg/kgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan ekspresi TNF- α organ lambung kelompok 2 (kontrol positif), serta memiliki ekspresi TNF- α organ lambung yang lebih rendah dari kontrol positif. Terapi dengan pemberian dosis tersebut dinilai belum optimal dalam mengurangi ekspresi TNF- α organ lambung tikus model IBD. Kelompok 5 (terapi dengan dosis 800mg/kgBB) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dengan ekspresi TNF- α organ lambung kelompok 2 (kontrol positif), serta memiliki ekspresi TNF- α organ lambung yang lebih rendah dari kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa terapi ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu dengan

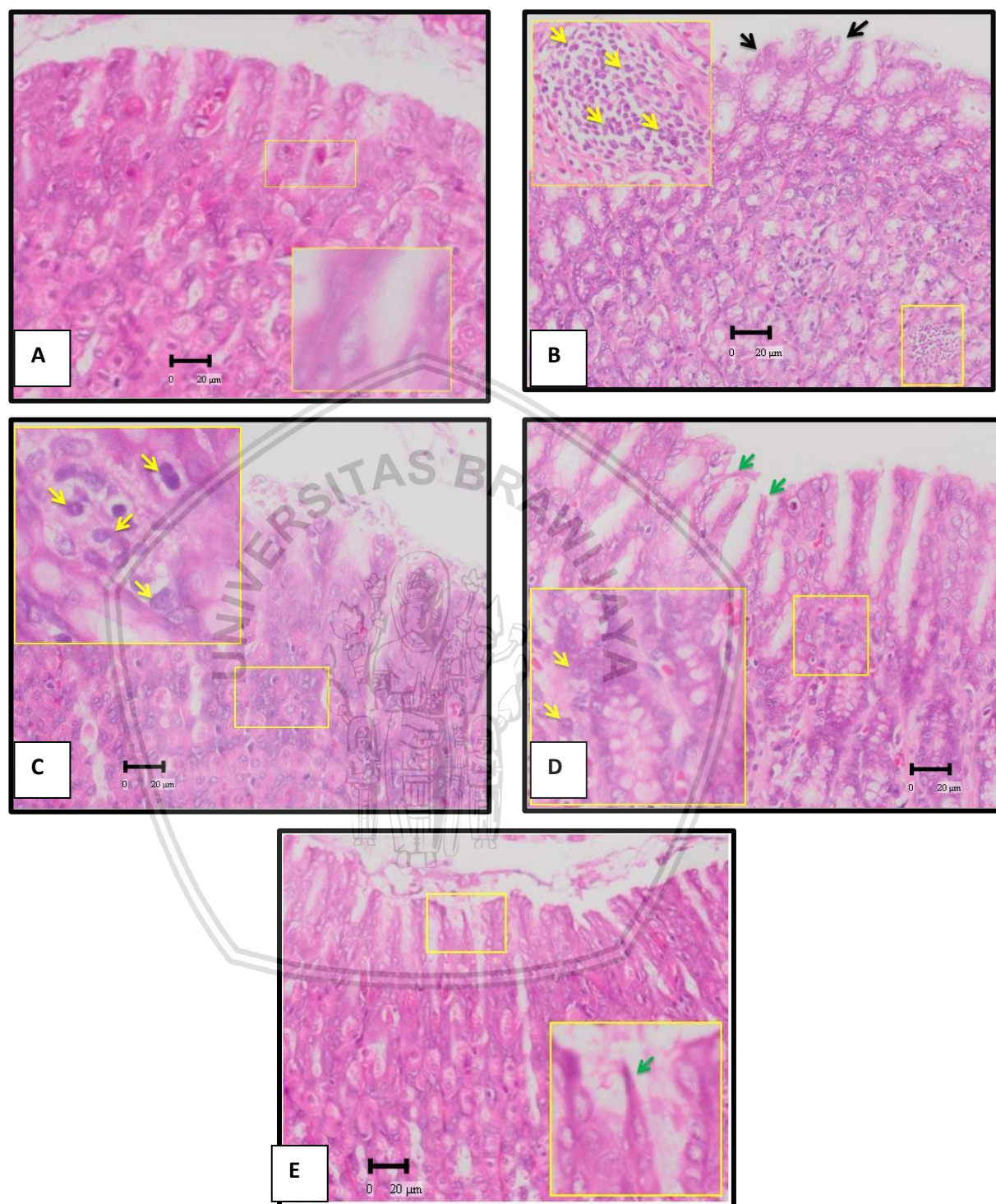
dosis 800mg/kgBB memiliki hasil yang optimal dalam mengurangi ekspresi TNF- α organ lambung pada tikus model IBD.

Perbedaan nyata pada kelompok perlakuan terapi dengan kontrol positif terjadi karena ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu memiliki kandungan antosianin dan flavonoid. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Riyansyah *et al* (2015), kandungan antosianin dan flavonoid pada ekstrak daun ubi jalar ungu memiliki sifat antioksidan dan antiinflamasi yang mampu mengurangi ekspresi TNF- α . Flavonoid pada ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu mampu menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh, sehingga dapat menurunkan kadar ROS dalam jaringan. Hal tersebut dapat menurunkan aktivasi NF- κ B, sehingga tidak mampu memberikan sinyal pada nukleus untuk melakukan translasi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α . Oleh karena itu, ekspresi TNF- α pada jaringan akan ditekan.



5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* L.Lam) terhadap Perubahan Histopatologi Organ Lambung Tikus (*Rattus norvegicus*) Model IBD yang Diinduksi dengan Indometasin

Pemeriksaan histopatologi pada jaringan menjadi salah satu parameter untuk mengetahui keberhasilan terapi penyakit. Pada penelitian ini, pemeriksaan histopatologi ditujukan untuk melihat pengaruh pemberian terapi ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu terhadap perbaikan jaringan lambung organ tikus model IBD terhadap kontrol positif. Jaringan organ lambung secara normal terdiri atas yaitu *tunica mukosa*, *sub mukosa*, *muskularis* dan *serosa* (Tortora dan Bryan, 2008). Tunika mukosa lambung terdiri dari lapisan *epitelia* (epitel silindris sebaris), *lamina propria* dan *muscularis mukosa*, serta terdapat penjururan yang dinamakan *gastric pit*. Tunika sub mukosa terdiri dari jaringan lemak dan pembuluh darah. Pada *tunica muscularis* lambung, terdiri dari tiga bentukan, yaitu *oblique layer tunica muscularis*, *circular layer tunica muscularis* dan *longitudinal layer tunica muscularis*. Sedangkan *tunica serosa* pada organ lambung terdiri dari jaringan ikat lambung (Young *et al*, 2013). Indikator tersebut menjadi acuan dalam melihat pengaruh terapi ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu terhadap perbaikan jaringan lambung organ tikus model IBD. Hasil pemeriksaan histopatologi pada jaringan menunjukkan adanya perbaikan histopatologi jaringan pada kelompok terapi IBD menggunakan ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu seperti pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1. Histopatologis organ lambung tikus dengan pewarnaan *Hematoksilin Eosin* (HE), perbesaran 400x dan 1000x

Keterangan: (A) kelompok 1, (B) kelompok 2, (C) kelompok 3, (D) kelompok 4, (E) kelompok 5, (↑) erosi sel epitel, (↑) infiltrasi sel radang, (↑) perbaikan sel epitel.

Hasil pemeriksaan histologi pada jaringan organ lambung tikus kelompok 1 (**Gambar 5.1 A**) menunjukkan epitel silindris sebaris yang jelas. Selain itu bentukan dan batas antar *gastric pit* pada mukosa lambung terlihat jelas, reguler dan tidak mengalami erosi. Sel foveolar pada bagian *neck zone* jaringan lambung masih dapat diidentifikasi berbentuk ireguler dan bersifat basofilik pada pewarnaan HE. Menurut Banks (1993), sel foveolar berfungsi dalam produksi mukus sebagai perlindungan mukosa lambung. Sedangkan pada jaringan organ lambung kelompok 2 (**Gambar 5.1 B**) terlihat adanya erosi pada epitel mukosa lambung. Selain itu terdapat infiltrasi sel radang. Kerusakan sel epitel pada organ lambung tikus kelompok 2 menyebabkan lapisan epitel menjadi iregular serta terdapat beberapa *gastric pit* yang patah. Batas antar *gastric pit* pada jaringan organ lambung tikus kelompok 2 tidak terlihat dengan jelas. Selain itu sel foveolar sebagai produsen mukus tidak dapat diidentifikasi. Hal tersebut membuktikan penelitian (Yadav *et al.* 2012), yang menyatakan bahwa administrasi indometasin dengan dosis 15 mg/kgBB secara per oral pada tikus dapat menyebabkan iritasi dan kerusakan pada mukosa lambung, serta atrofi pada sel foveolar organ lambung.

Hasil pemeriksaan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pada kelompok 3 (Terapi dengan dosis 600mg/kgBB) (**Gambar 5.1 C**) belum menunjukkan adanya perbaikan dari erosi sel epitel. Selain itu, terjadi pengurangan infiltrasi sel radang dibandingkan dengan kontrol positif. Selain itu, pada kelompok ini sel foveolar pada *neck zone* jaringan lambung sebagian besar masih mengalami atrofi.

Hasil pemeriksaan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pada kelompok 4 (Terapi dengan dosis 700mg/kgBB) (**Gambar 5.1 D**) menunjukkan adanya perbaikan dari erosi sel epitel. Selain itu, terjadi pengurangan infiltrasi sel radang dibandingkan dengan kontrol positif dan kelompok 3. Sel foveolar pada kelompok ini sebagian besar masih mengalami atrofi, sama seperti kelompok perlakuan 2. Dengan demikian terapi IBD dengan ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu dosis 700mg/kgBB lebih baik dibandingkan dengan dosis terapi 600mg/kgBB.

Hasil pemeriksaan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model IBD pada kelompok 5 (Terapi dengan dosis 800mg/kgBB) (**Gambar 5.1 E**) menunjukkan adanya perbaikan dari erosi sel epitel. Hal ini ditandai dengan ditemukannya sel imatur yang identik dengan sel epitel intestinal primitif yang ditemukan pada saat embrio. Sel-sel tersebut memiliki inti sel yang besar dengan anak inti menonjol, sedikit organel, dan tidak memiliki granula mukus (Ogata, 2000). Selain itu, sel foveolar pada *neck zone* jaringan lambung sebagian dapat diidentifikasi. Dengan demikian pemberian terapi dengan ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu dosis 800mg/kgBB paling efektif dalam menangani IBD dibandingkan dengan dosis lainnya.

Kerusakan jaringan, khususnya pada mukosa organ lambung pada hasil pemeriksaan histopatologi kelompok 2 (kontrol positif) merupakan efek dari pemberian indometasin dengan dosis 15 mg/kgBB secara per oral pada tikus. Hatazawa *et al* (2006), menerangkan bahwa indometasin dapat menghambat dua isoform COX, yaitu COX-1 dan COX-2, sehingga terjadi penurunan perlindungan

mukosa lambung akibat dari menurunnya produksi mukus lambung dan peningkatan produksi HCL lambung. Oleh karena itu, terjadi kerusakan pada mukosa lambung akibat suasana asam pada lambung yang disertai dengan penurunan barier mukosa lambung, sehingga dapat secara langsung mengiritasi dan menyebabkan erosi mukosa lambung. Sehingga manifestasi berupa inflamasi dan infiltrasi sel radang (Yadav *et al.* 2012). Jumlah rata-rata infiltrasi sel radang pada penelitian ini dapat dilihat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 5.2 Rata-rata infiltrasi sel radang lambung tikus (*Rattus norvegicus*)

Sumber Keragaman	Rata-rata (Per lapang pandang = 1,6mm ²)	SEM
Kontrol Negatif	5 ^a	0,48
Kontrol Positif (IBD)	42 ^e	0,41
Terapi 600mg/kgBB	29 ^d	0,82
Terapi 700mg/kgBB	20 ^c	0,48
Terapi 800mg/kgBB	11 ^b	0,65

Keterangan: Notasi a, b, c, d, dan e menunjukkan ada perbedaan antar kelompok perlakuan

Respon Inflamasi pada gambaran histopatologi organ lambung tikus ditandai dengan adanya infiltrasi sel radang. Rata-rata infiltrasi sel radang pada kelompok 1 (kontrol negatif) adalah 5/lapang pandang. Sedangkan rata-rata infiltrasi sel radang pada kelompok 2 (kontrol positif) adalah 42/lapang pandang, jauh lebih tinggi dari kelompok 1. Infiltrasi sel radang terjadi akibat adanya aktivasi sitokin pro-inflamasi seperti TNF- α , sehingga menyebabkan inisiasi infiltrasi sel radang pada situs inflamasi. Fungsi infiltrasi sel radang pada situs inflamasi adalah untuk memfagosit dan mendegradasi benda asing termasuk

indometasin. Jenis sel radang yang terinfiltrasi pada area kerusakan adalah limfosit dan neutrofil (Stadnyk *et al*, 2002). Akan tetapi infiltrasi sel radang yang mendominasi adalah neutrofil dan limfosit. Hal ini karena neutrofil merupakan sel radang pada sistem kekebalan non-spesifik yang pertama kali datang pada saat terjadinya respon inflamasi. Sedangkan sel limfosit merupakan pertahanan alami pada organ digesti yang berasal dari sistem GALT (*Gut Assosiated Lymphoid Tissue*) yang terletak pada zona basal lamina propria mukosa organ lambung (Yamada, 2005).

Rata-rata infiltrasi sel rasang pada kelompok 3 (dosis terapi 600mg/kgBB), 4 (dosis terapi 700mg/kgBB) dan 5 (dosis terapi 800mg/kgBB) adalah masing-masing 29/lapang pandang, 20/lapang pandang dan 12/lapang pandang. Infiltrasi sel radang pada kelompok 3 lebih rendah dibanding kelompok 2. Infiltrasi sel radang pada kelompok 4 lebih rendah dibanding kelompok 2 dan 3. Sedangkan infiltrasi sel radang pada kelompok 5 lebih rendah dibanding kelompok 2, 3 dan 4. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok perlakuan ke-4 memiliki efek terbaik dalam menurunkan jumlah infiltrasi sel radang pada jaringan lambung tikus model IBD.

Ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) kaya akan kandungan polifenol berupa flavonoid dan antosianin. Kandungan flavonoid ini mampu menghambat reaksi oksidasi dalam tubuh, sehingga mampu menurunkan kadar ROS dalam jaringan (Hue *et al*, 2012). Antosianin memiliki kemampuan untuk mengikat ROS seperti superoksida (O_2^-), singlet oksigen (1O_2), peroksida (ROO^{\cdot}), Hidrogen peroksida (H_2O_2), dan hidroksilradikal (OH^{\cdot}). Mekanisme antioksidan antosianin diantaranya yaitu dengan secara langsung berperan sebagai

ROS *scavenging*, memberikan donor ion hidrogen (H^+) pada senyawa ROS agar menjadi stabil, meningkatkan kapasitas penyerapan oksigen radikal sel, mengurangi pembentukan oksidatif dengan cara membuat aduksi dalam DNA sel, serta mengurangi peroksidasi lipid (Bhattacharyya, 2014). Penurunan ROS pada jaringan menyebabkan penurunan aktivasi sitokin pro-inflamasi, sehingga mengurangi inflamasi dan regresi sel radang. Selain itu, pengurangan ROS dalam jaringan secara langsung juga mengurangi kerusakan membran dan mitokondria sel, sehingga dapat mengurangi terjadinya apoptosis (Pochapski *et al*, 2011). Oleh karena itu, pemberian ekstrak ethanol dapat memperbaiki kontinuitas sel epitel dan mengurangi infiltrasi sel radang.

Berdasarkan penelitian didapatkan hasil bahwa terapi Ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD dapat memperbaiki gambaran histopatologi lambung dengan mengembalikan kondisi kontinuitas lapisan epitel serta menurunkan infiltrasi sel radang. Dosis terapi yang terbaik menunjukkan perbaikan, yaitu kelompok 5 (terapi 800 mg/Kg BB).

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) berpengaruh terhadap ekspresi tumor nekrosis faktor alfa (TNF- α) pada organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin dengan dosis terbaik 800mg/kgBB.
2. Pemberian ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) berpengaruh terhadap perubahan histopatologi organ lambung tikus (*Rattus norvegicus*) model *Inflammatory Bowel Disease* yang diinduksi dengan indometasin dengan indometasin dengan dosis terbaik 800mg/kgBB.

6.2 Saran

Diperlukan penelitian lanjutan untuk mengetahui kandungan fitokimia ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas L.Lam*) untuk mengetahui konsentrasi polifenol yang diperlukan dalam terapi tikus putih (*Rattus norvegicus*) model IBD induksi indometasin. Selain itu, perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui LD50 dari ekstrak ethanol daun ubi jalar ungu.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad T, Satsangi J and McGovern D, 2001. Review Article: The Genetics of Inflammatory Bowel Disease. *Aliment Pharmacol Ther.* Vol 15:731–48. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03476.x.
- Ariola, Mariano M. 2006. *Principles and Method of Research*. Philipines. Rex Book Store Inc. <https://books.google.co.id/books?isbn=9712345483>.
- Aulanni'am, Anna Roosdiana dan Nur Lailatul Rahmah. 2011. Potensi Fraksi Etanol dan Etil Asetat Rumpun Laut Coklat (*Sargassum duplicatum* Bory) Terhadap Penurunan Kadar Malondialdehid dan Perbaikan Gambaran Histologis Jejunum Usus Halus Tikus IBD (*Inflammatory Bowel Disease*) Potency of Brown Seaweed (*Sargassum duplicatum* Bory) Ethanol. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. Vol. 4(1): 57-64. https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiN7uCXuYLbAhUSUI8KHx79BBQQFggsMAA&url=http%3A%2F%2Fjournal.unair.ac.id%2Fdownload-fullpapers11_Jurnal%2520FKH_Potensi%2520Fraksi%2520Etanol.pdf&sg=AOvVaw0csXF_572aPTv8gEwP8sAt.
- Banks, William J. 1993. *Applied Veterinary Histology Third Edition*. UK: Mosby.
- B.S Antia, E.J. Akpan, P.A. Okon and I.U. Umoren. 2006. Nutritive and Anti-Nutritive Evaluation of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas*) Leaves. *Pakistan Journal of Nutrition*. Vol 5 (2): 166-168. DOI: 10.3923/pjn.2006.166.168.
- Bernstein CN, Blanchard JF and Rawsthorne P. 2007. The Prevalence of Extraintestinal Disease in Inflammatory Bowel Disease: a population-based study. *Am J Gastroenterol*. Vol 96 (4): 1116–22. DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03756.x.
- Bhattacharyya, Asima, Ranajoy C., Sankar Mitra and Sheila E. Crowe. 2014. Oxidative Stress: An Essential Factor in The Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases. *Physiol Rev*. Vol 9 (4): 329-354. DOI: 10.1152/physrev.00040.2012.
- Campieri, M, C. Fiochi and S.B. Hannauer. 2002. *Inflammatory Bowel Disease: A Clinical Case Approach to Pathophysiology, Diagnosis, and Treatment*. USA. Springer. <https://books.google.co.id/books?isbn=0792387724>.
- Carvalho, Isabel S., Teresa Cavaco, Lara M. Carvalho and Paula Duque. 2010. Effect of photoperiod on flavonoid pathway activity in sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) leaves. *Journal Food Chemistry ELSEVIER*. Vol 118 : 384–390. DOI : 10.1016/j.foodchem.2009.05.005.

- Chang, Wen-Hsin, Shene-Pin Hu, Ying-Fen Huang, Tzu-Shao Yeh, and Jen-Fang Liu. 2010. Effect of purple sweet potato leaves consumption on exercise-induced oxidative stress and IL-6 and HSP72 levels. *J Appl Physiol*. Vol 109: 1710–1715. DOI: [org/10.1152/physrev.1992.72.4.1063](https://doi.org/10.1152/physrev.1992.72.4.1063).
- Chen SY, Wai SY, Wilson TLY. 2012. Comparison of anthocyanin and phenolic contents between tuber and callus of *Ipomoea batatas* L. [komunikasi singkat]. *Pertanika J Trop Agric Sci* . Vol 35(1):9-14. DOI: 10.1128/AAC.04841-14.
- Fassihi A, Sabet R. 2008. Study of p56^{lck} Protein Tyrosine Kinase Inhibitory Activity of Flavonoids Derivatives Using MLR and GA-PLS. *Int.J.Mol.Sci*. Vol 18: 76-92. DOI: 10.3390/ijms9091876.
- Fan G, Han Y, Gu Z and Chen D. 2007. Optimizing conditions for anthocyanins extraction from purple sweet potato using response surface methodology (RSM). *Swiss Soc Food Sci Technol* . Vol 41:155-160. DOI: 10.1007/s13197-014-1345-3.
- Firmansyah, Mohammad Adi. 2013. Perkembangan Terkini Diagnosis dan Penatalaksanaan *Inflammatory Bowel Disease*. Korespondensi CDK-203. Vol 40 (4): 247-252. http://www.kalbemed.com/Portals/6/05_203Perkembangan%20Terkini%20Diagnosis%20dan%20Penatalaksanaan%20Imflammatory%20Bowel%20Disease.pdf.
- Gramlich, Terry and Robert E. Petras. 2007. Pathology of Inflammatory Bowel Disease. *Seminars in Pediatric Surgery*. Vol 16: 154-163. DOI: 10.1053/j.sempedsurg.2007.04.005.
- Hatazawa, Ryo, Ryoko Ohno, Mayu Tanigami, Akiko Tanaka, and Koji Takeuchi. 2006. Roles of Endogenous Prostaglandins and Cyclooxygenase Isozymes in Healing of Indomethacin-Induced Small Intestinal Lesions in Rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. Vol. 318 (2): 691-699. DOI: <https://doi.org/10.1124/jpet.106.103994>.
- Head, Kathleen A., dan Julie S. 2003. Inflammatory Bowel Disease Part I: Ulcerative Colitis – Pathophysiology and Conventional and Alternative Treatment Options. *Review Thorne Research*. Vol 8 (3):247-283. DOI: 12946238.
- Hue, Seow Mun, Amru Nasrulhaq Boyce and Chandran Somasundram. 2012. Antioxidant Activity, Phenolic and Flavonoid Contents in The Leaves of Different Varieties of Sweet Potatoes (*Ipomoea batatas*). *AJCS*. 6(3): 375-380. www.cropj.com/hue_6_3_2012_375_380.pdf.

- Human, Zosimo. 1992. *Systematic Botany and Morphology of the Sweetpotato Plant*. Peru. International Potato Center. <https://books.google.co.id/books?id=eqLEjM8qTnAC>.
- Irving, Peter, Corey Siegel, David Rampton and Fergus Shanahan. 2011. *Clinical Dilemmas in Inflammatory Bowel Disease*. UK. Willey-Blackwell. <https://books.google.co.id/books?isbn=144434255X>.
- Islam, Sahidul. 2006. Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaf: Its Potential Effect on Human Health and Nutrition. *Journal of Food Science*. Vol. 71 (2) : 13-21. DOI: 10.1111/j.
- Islam, Shahidul, Makoto Yoshimoto, Norihiko Terahara and Osamu Yamanakawa. 2002. Anthocyanin Compositions in Sweetpotato (*Ipomoea batatas* L.) Leaves. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 66 (11), 2483–2486. DOI: 10.1021/jf020120l.
- Kar, Ashutosh. 2005. *Medical Chemistry 3rd Edition*. new Delhi. New age International Publisher. <https://books.google.co.id/books?isbn=812241565>.
- Krinke G.J. 2000. *The Handbook of Experimental Animals: The Laboratory Rat*. London: Academic Press. <https://books.google.co.id/books?isbn=1444318>.
- Krisner, Joseph B. 2001. *Origins and Directions of Inflammatory Bowel Disease, Early Studies of Nonspecific Inflammatory Bowel Disease*. USA. Springer. <https://books.google.co.id/books?isbn=9401003262>.
- Krisner, Joseph B., B. Sartor, dan William J. Sandborn. 2004. *Kirsner's Inflammatory Bowel Diseases*. USA. Saunders. <https://books.google.co.id/books?isbn=0721600018>.
- Kristanti, A. N., N. S. Aminah, M. Tanjung, dan B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Surabaya. Airlangga University Press.
- Macdonald T.T, Monteleone G and Pender S.L.F.2000. Recent Developments in The Immunology of Inflammatory Bowel Disease. *Scand J Immunol*. Vol 51:2–9. DOI: 10.1172/JCI16432.
- Magroa F. Langnerb, A. Driessen A., Ensari K. Geboese, G.J. Mantzaris, V. Villanacci, G. Becheanuh, P. Borralho Nunesi, G. Cathomas, W. Fries, A. Jouret-Mourin, C. Mescolim, G. de Petris, C.A. Rubio and N.A. Shepherd, M. Vieth. 2013. European Consensus on the Histopathology of Inflammatory Bowel Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*. Vol 7: 827–851. doi: 10.1016/j.crohns.2013.06.001.
- Mikamo, E., Okada, Y., Semma, M., Itto, Y., and Morimoto T, 2000. Studies on Structural Correlationship with Antioxidant Activity of Flavonoids. *J. Jpn. Soc. Food Sci. Technol.* 7, 97-101. DOI: 10.5455/jice.20140619030232.

- Mescher, Anthony L. 2010. *Junqueira's Basic Histology, Twelfth Edition*. USA. The McGraw-Hill Companies, Inc.
- Moore, K.L. 2010. *Clinical Oriented Anatomy*. Philadelphia. Lippicott Williams & Wilkins. <https://books.google.co.id/books?isbn=1451119453>.
- Offeman, Richard D. Serena K. Stephenson, George H. Robertson, and William J. Orts. 2005. Solvent Extraction of Ethanol from Aqueous Solutions. I. Screening Methodology for Solvents. *Ind. Eng. Chem. Res.* 44: 6789-6796. DOI: 10.1021/ie0500319.
- Ogata T. 2000. Duodenal And Gastric Cell Regenerating Epithelia On Margins Of Human Duodenal Ulcer And Presence Of *H. Pylori* – An Electron Microscopic Study. *Journal Histology Histopathology.* 12: 57-68. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9046044>.
- Pochapski MT, Fosquiera EC, Esmerino LA, dos Santos EB, Farago PV, Santos FA, Groppo FC. 2011. Phytochemical screening, antioxidant, and antimicrobial activities of the crude leaves extract from *Ipomoea batatas* (L.) Lam. *Pharmacognosy Magazine.* Vol 26:165-190. DOI: 10.4103/0973-1296.80682.
- Price S.A., dan Wilson L.M. 2006. *Patofisiologi Konsep Proses-proses Penyakit*, Edisi Ke-6. Jakarta. ECG.
- Prusakiewicz, Jeffery J., Andrew S. Felts, Bonnie S. Mackenzie, and Lawrence J. Marnett. 2004. Molecular Basis of the Time-Dependent Inhibition of Cyclooxygenases by Indomethacin. *Biochemistry.* Vol 43: 15439-15445. DOI:10.1021/bi048534q.
- Riyansyah, Yudha, Lanny Mulqie dan Ratu choesrina. 2015. Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak ethanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam) Terhadap Tikus Wistar Jantan. *Prosiding Penelitian SPESIA Unisba.* Hal 630-636. unisba.ac.id/index.php/farmasi/article/view/219.
- Rukmana, Rahmat. 1997. *Ubi Jalar Budidaya dan Pasca panen*. Yogyakarta. Kanisius. <https://books.google.co.id/books?isbn=9794979155>.
- Sharp P. and Villano J. 2013. *The Laboratory Rat 2nd Edition*. Boca Raton. CRC Press. <https://books.google.co.id/books?isbn=1498703712>.
- Simadibrata M dan Syam A.F. 2005. *Gastroenterology*. Jakarta. Departemen Penyakit Dalam FKUI. <https://scholar.google.com/citations?user=PZVuIAwAAAAJ&hl=id>.
- Stadnyk A.W, C Dollard, T B Issekutz and A C Issekutz. 2002. Neutrophil Migration into Indomethacin Induced Rat Small Intestinal Injury is Co-dependent CD11a/CD18 and CD11b/CD18. *Gut.* Vol 50: 629–635.

- Supadmi, Sri. 2009. Studi Variasi Ubi jalar (*Ipomoea batatas*. L), Berdasarkan Morfologi, Kandungan Gula Reduksi dan Pola Pita Isozim. *Thesis*. Surakarta. Universitas Sebelas Maret. <https://eprints.uns.ac.id/15115/1/229930202201208161.pdf>.
- Thoreson, Rebecca and Joseph J. Cullen. 2007. Pathophysiology of Inflammatory Bowel Disease: An Overview. *Surg Clin N Am*. Vol 87: 575–585. DOI:10.1016/j.suc.2007.03.001.
- Tjay, Tan Hoan and Kirana Rahardja. 2007. *Obat-obat Penting, Khasiat, penggunaan dan Efek-efek Sampingnya edisi Ke-6*. Jakarta. Gramedia. <https://books.google.co.id/books?isbn=979271913X>.
- Tortora, Gerard J. and Bryan Derrickson. 2008. *Principles of Anatomy and Physiology*. UK. John Willey & Sons. <https://books.google.co.id/books?isbn=0470084715>.
- Vane, Sir John and Jack Botting. 2012. *Selective COX-2 Inhibitors, Pharmacology, Clinical Effects and Therapeutic potential*. Germany. Boehringer Ingelheim. <https://www.springer.com/gp/book/978940160417>.
- Volkman M., J.M. Steiner, G.T. Fosgate, J. Zentek, S. Hartmann, and B. Kohn. 2017. Chronic Diarrhea in Dogs – Retrospective Study in 136 Cases. *J Vet Intern Med*. Vol 31:1043–1055. doi: 10.1111/jvim.14739.
- Warhamni, Dirvamena Boer, Muzuni. 2013. Keragaman Morfologi Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea batatas* [L.] Lam.) Asal Kabupaten Muna. *Jurnal Agroteknos*. Vol. 3 (2) : 121-126. faperta.uho.ac.id/.../2013-2-09-WARHAMNI-Ubi%20jalar.pdf.
- Wiinberg B, Spohr A, Dietz HH, Egelund T, Greiter-Wilke A, McDonough SP, Olsen, Priestnall S, Chang YF and Simpson KW. 2005. Quantitative Analysis of Inflammatory and Immune Responses in Dogs with Gastritis and Their Relationship to *Helicobacter* spp. Infection. *J Vet Intern Med*. 19(1):4-14. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1571504>.
- Yamada T. 2005. *Handbook of Gastroenterology 2nd Edition*. Philadelphia. Lippincott Williams & Wilkins. <https://books.google.co.id/books?isbn=1118572645>.
- Yadav, Sudhir K., Biplab Adhikary, Saswati Chand, Biswanath Maity, Sandip K., Bandyopadhyay and Subrata Chattopadhyay. 2014. Molecular Mechanism of Indomethacin-induced Gastropathy. *Free Radical Biology and Medicine*. Vol. 52 (7) : 1175-1187. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2011.12.023>.

Young, Barbara, Philip Woodford and Geraldine o' Dowd. 2013. *Wheater's Functional Histology E-Book: A Text and Colour Atlas*. USA. ELSEVIER.. <https://books.google.co.id/books?isbn=0702054887>.

